

Aus der Klinik für Urologie und Kinderurologie

(Geschäftsführender Direktor Univ.- Prof. Dr. R. Hofmann)
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

und

in Zusammenarbeit mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

**Evaluation des Knochenstoffwechsels anhand verschiedener
Resorptions- und Formationsmarker im Serum bei Patienten mit
lokalisiertem und fortgeschrittenem Prostatakarzinom**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Liseta Koliva aus Groß-Umstadt

Marburg 2012

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am
02.02.2012

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Univ.- Prof. Dr. M. Rothmund

Referent: PD Dr. A. Hegele

1. Korreferent: Prof. Dr. U. Koehler

MEINER FAMILIE

1. Einleitung	6
1.1. Epidemiologie.....	6
1.2. Ätiologie.....	7
1.3. Klinik des Prostatakarzinoms	8
1.4. Diagnostik.....	9
1.4.1. Digitale rektale Untersuchung (DRU).....	9
1.4.2. Transrektale Sonographie (TRUS)	10
1.4.3. Prostata spezifisches Antigen (PSA)	10
1.4.4. Prostatastanzbiopsie	12
1.4.5. Computertomographie (CT)	13
1.4.6. Knochenszintigraphie	14
1.4.7 Magnetresonanztomographie (MRT)	14
1.5. Pathologie und Stadieneinteilung	15
1.5.1 Pathologie	15
1.5.2. Stadieneinteilung.....	16
1.5.3. Gleason score	17
1.6. Tumorausbreitung und Metastasierung	18
1.6.1 Tumorausbreitung	18
1.6.2. Metastasierung.....	18
1.7. Therapie des Prostatakarzinoms	19
1.8. Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms.....	22
1.9. Knochenstoffwechselfparameter und ihre (klinische) Bedeutung beim Prostatakarzinom.....	25
1.10. Alkalische Phosphatase (AP).....	28
1.11. Osteocalcin (OC).....	29
1.12. Tartrate-resistent Saure Phosphatase Typ 5b (TRACP 5b)	30
1.13. Kollagen Typ I Telopeptide (Serum-CTX).....	31
1.14. Fragestellung.....	34
2. Material und Methodik.....	35
2.1. Studiengruppe	35
2.2. Messung.....	36
2.2.1. Untersuchungsmaterial	36
2.2.2. Verwendete Materialien	36
2.2.3. Alkalische Phosphatase	37
2.2.4. Osteocalcin.....	37
2.2.5. Tartrate-resistent Saure Phosphatase Typ 5b	38
2.2.6. Kollagen Typ I Telopeptide	39
2.3. Statistische Verfahren	40
3. Ergebnisse	41

3.1. Studiengruppe	41
3.2. Messergebnisse für AP, OC, TRACP5b und Serum-CTX	43
3.2.1. Ergebnisse	43
3.2.2. Knochenstoffwechselfparameter und präoperatives PSA	44
3.3. Alkalische Phosphatase	47
3.4. Osteocalcin.....	48
3.5. Tartrate-resistent Saure Phosphatase Typ 5b	49
3.6. Kollagen Typ I Telopeptide	50
4. Diskussion	51
5. Zusammenfassung.....	62
6. Summary	64
7. Abbildungsverzeichnis	66
8. Abkürzungsverzeichnis	67
9. Literaturliste	69
10. Lebenslauf.....	79
11. Ehrenwörtliche Erklärung.....	79
12. Publikationen	79
13. Verzeichnis akademischer Lehrer	80
14. Danksagung	81

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist der häufigste maligne Tumor des Mannes vor dem Bronchialkarzinom. Der Tumor wird vornehmlich im höheren Alter diagnostiziert. Das Manifestationsalter liegt im Durchschnitt bei 71 Jahren (Statistisches Bundesamt, Kataja et al. 2005, siehe Abb.1)

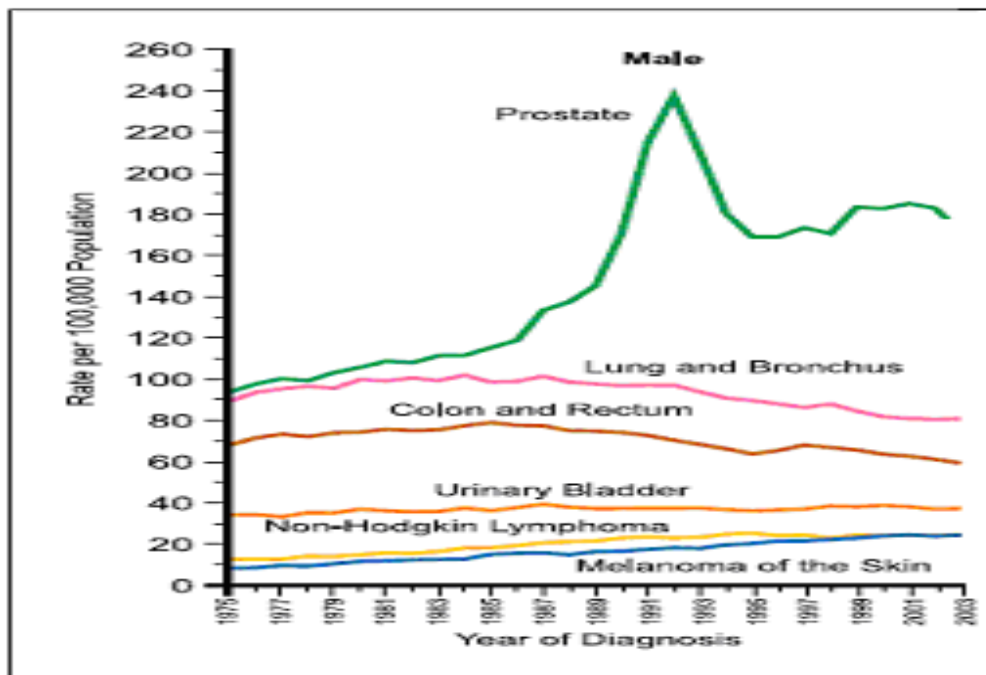


Abbildung 1: Das Prostatakarzinom im Vergleich zu anderen Tumoren (Abbildung modifiziert aus Jemal et al., Cancer statistics 2007)

Während die Tumorerkrankung um das 40. Lebensjahr kaum zu beobachten ist, steigt die Inzidenz von 52/100.000 bei den 55jährigen auf 992/100.000 bei den 85jährigen und beträgt etwa 120/100.000 Männer über alle Altersklassen hinweg. 95% aller Sterbefälle durch ein Prostatakarzinom treten nach dem 60. Lebensjahr auf, wobei ein Anstieg der Mortalität um den Faktor 3 nach dem 75. Lebensjahr zu verzeichnen ist (Arbeitsgemeinschaft Krebsregister, 2002).

Ethnische und geographische Unterschiede sind im Hinblick auf die Inzidenz und Mortalität des klinisch manifesten Prostatakarzinoms zu beobachten. Zeigt die chinesische Bevölkerung eine Inzidenz von 1/100.000, so liegt die Inzidenz in der farbigen Bevölkerung der USA bei 25/100.000 (Altwein et al. 2003; Parkin et al. 2005). In den letzten Jahren zeigt sich ein stetiger Anstieg der Neuerkrankungen, während die Zahl der Mortalität sinkt, was beides vermutlich auf verbesserte Früherkennungsmaßnahmen und optimierte Therapiemaßnahmen zurückzuführen ist (Oliver et al. 2001; Baade et al. 2004). Diese Tatsache erklärt auch die enorm hohe Inzidenz in der amerikanischen Bevölkerung, in welcher das Prostatakarzinom das am häufigsten diagnostizierte Karzinom ist. 2002 wurden weltweit 679.000 neue Fälle eines Prostatakarzinoms beschrieben, was den Tumor zu den fünf häufigsten Tumoren der Welt zählen lässt (Parkin et al. 2005).

1.2. Ätiologie

Die Ätiologie des Prostatakarzinoms ist unzureichend geklärt, verschiedene Erklärungsansätze werden diskutiert. Gesicherte Faktoren sind das Alter, die genetische Disposition und die ethnische Zugehörigkeit. 80% der Karzinompatienten sind älter als 80 Jahre, womit das Alter den größten Risikofaktor darstellt (Parkin et al. 2005). Es ist bekannt, dass es eine familiäre Häufung von Prostataerkrankungen gibt. Brüder von Prostatakarzinom-Patienten, die im 7. Lebensjahrzehnt erkrankten, haben eine 4x höhere Inzidenz im Vergleich zu altersgleichen Männern an einem Prostatakarzinom zu erkranken (Altwein et al. 2003). Ein 5-faches Risiko besteht, wenn sowohl beim Vater als auch beim Bruder ein Prostatakarzinom diagnostiziert wurde (Steinberg et al. 1990). Auch hormonale Faktoren sind an der Kanzerogenese des Prostatakarzinoms mitwirkend. Eine androgene Stimulation scheint für das Tumorwachstum notwendig zu sein (Altwein et al. 2003; Sökeland et al. 2002). So ist bei Eunuchen und Kastraten, die einen niedrigen Testosteronspiegel aufweisen, das Prostatakarzinom praktisch nicht zu finden (Breslow et al. 1977). Im Gegensatz dazu konnten Studien, die den Einfluss der Höhe der Testosteronserumkonzentration auf die Entstehung des Prostatakarzinoms untersuchten, keinen wesentlichen Einfluss des Serumtestosteronsspiegels auf die Entwicklung eines Prostatakarzinoms beobachten (Muir et al. 1991).

Ein exogener Faktor scheint der Fettanteil in der Nahrung zu sein. In verschiedenen Studien wurde eine positive Korrelation zwischen fettreicher, faserarmer Nahrung und der Prostatakarzinom-Inzidenz beobachtet. Insbesondere ein hoher Gehalt an gesättigten Fettsäuren in der Nahrung steigert das Risiko ein Prostatakarzinom zu bekommen (Rohan et al. 1995). Ein gutes Beispiel liefert die USA (Fair et al. 1997). Demnach haben in den USA lebende Japaner ein höheres Risiko für das Prostatakarzinom als in Japan lebende Japaner, was einerseits an den Essgewohnheiten der amerikanischen Bevölkerung liegt. Andererseits führt ein hoher Gehalt an Phytoöstrogenen in der asiatischen Nahrung zu einer weiteren Senkung des Mortalitätsrisikos (Haenszel et al. 1968; Kolonel et al. 1996). Faserreiche, vegetarische Kost sowie Vitamin E, D und Selen sollen einen karzinomprotektiven Effekt haben (Hammerer P. 2000). Nachweise, dass Zusatzstoffe in irgendeiner Weise Prostatakarzinom-protektiv bzw. unterstützend wirken, gibt es bisher nicht. Lediglich 5-alpha-Reduktase Inhibitoren scheinen wirksam zu sein (S3 Leitlinien PCA 2009).

1.3. Klinik des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom zeigt im frühen kurablen Stadium keine Symptome (Altwein et al. 2003; Hautmann et Hüland 2006). Viele Patienten geben bei Diagnosestellung des Tumors im frühen Stadium keinerlei Beschwerden an, weshalb Früherkennungsmaßnahmen und Screeningprogrammen ein hoher Stellenwert in der Diagnostik zuzuschreiben ist.

Aufgrund der seltenen Frühsymptome wird die Krankheit meist in einem lokal fortgeschrittenen Stadium, häufig sogar erst durch Metastasen, symptomatisch. Erste obstruktive und irritative Miktionsymptome, ähnlich einer benignen Prostatahyperplasie, sind Dysurie, Abschwächung des Harnstrahls, Pollakisurie, Nykturie, Hämaturie oder sogar Hämospermie und werden erst wahrgenommen, wenn es zur Kompression der Harnröhre kommt. Lumbal lokalisierte Rückenschmerzen, Ischiasbeschwerden oder ziehende Schmerzen im Beckenbereich können mit Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms zusammenhängen und auf einen weit fortgeschrittenen, bereits metastasierten Prozess hindeuten (Sökeland et al. 2002; Hautmann et al. 2006).

Da das Prostatakarzinom im Frühstadium kurativ behandelt werden kann, sind gezielte innovative Diagnostik und Früherkennung essentiell und unverzichtbar (Candas et al. 2000).

1.4. Diagnostik

Die Diagnostik des Prostatakarzinoms umfasst neben einer ausführlichen Anamnese und körperlichen Untersuchung, die digitale rektale Untersuchung (DRU), den Transrektalen Ultraschall der Prostata (TRUS), sowie die Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens (PSA). Die bioptische Abklärung erfolgt bei einem suspekten Tastbefund mithilfe der transrektal, ultraschallgeführten Stanzbiopsie. Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) und Skelettszintigraphie helfen bei der Diagnostik möglicher ossärer Metastasen. Neue interdisziplinäre S3-Leitlinien zur Früherkennung, Diagnostik und Therapie der verschiedenen Stadien des PCA wurden 2009 durch die Deutsche Gesellschaft für Urologie vorgestellt (S3-Leitlinien PCA, 2009).

1.4.1. Digitale rektale Untersuchung (DRU)

Die DRU stellt die Grundlage der Früherkennung des Prostatakarzinoms dar. Für Männer ab dem 40. Lebensjahr wird die jährliche digito-rektale Untersuchung mit Bestimmung des PSA-Wertes empfohlen (Rinnab et al. 2005; S3 Leitlinien PCA, 2009). Jeder karzinomverdächtige Befund einer DRU erfordert die bioptische Abklärung. Mit dieser relativ einfach durchzuführenden Methode kann bei suspektem Tastbefund in bis zu 50% der Fälle ein Prostatakarzinom bioptisch nachgewiesen werden (Kuefer R. 2004).

Größe, Form, Oberflächenbeschaffenheit sowie Abgrenzbarkeit und Indurationen sind die Kriterien, die bewertet werden. Differentialdiagnostisch kommen chronische Entzündungen der Prostata, wie eine granulomatöse Entzündung, Prostatakonkremente, Prostatainfarkte oder Prostatazysten in Frage (Hautmann et Huland 2006). Die Sensitivität der DRU betrug in prospektiven Studien zwischen 60-92%, die Spezifität 48-89%. Die große Variabilität der Befunde erklärt sich aus unterschiedlichen subjektiven Beurteilungen der Untersuchenden und der Präselektion der Patienten (Kuefer R 2004). PSA-Test und DRU gemeinsam

verbessern die Erkennungsrate deutlich. Diese Tatsache impliziert, dass man zur Diagnose des Prostatakarzinoms die verschiedenen diagnostischen Tests nicht einzeln, sondern in Kombination (DRU, PSA, TRUS) heranziehen sollte (Song et al. 2005; Candas et al. 2000).

1.4.2. Transrektale Sonographie (TRUS)

Der TRUS kann zur weiteren Abklärung bei Karzinomverdacht herangezogen werden. Spezial-Schallköpfe mit hoch auflösender Frequenz (5-7,5MHz) werden dafür transrektal eingeführt und erlauben so eine genaue Beurteilung der Prostata in Längs- und Querrichtung, eine Volumetrie sowie eine Verlaufsüberwachung unter laufender Therapie (Hautmann et Hulan 2006). Maligne Tumoren der Prostata stellen sich meist als hypodense, hyporeflexive und asymmetrische Areale in der Peripherie der Vorsteherdrüse dar (Rinnab et al. 2005). Dieses Bild ist nicht zwingend, denn hypodense Areale können auch durch die benigne Hyperplasie, Gefäße, Zysten oder Entzündungen hervorgerufen werden (Hautmann et Hulan 2006). Nur 75% der Karzinome stellen sich hypoechogen dar, 25% der Karzinome sind echomorphologisch nicht von benignen Arealen zu unterscheiden (Loch T 2004). Ein hypodenses Bild in der Peripherie der Drüse sollte als malignomverdächtig biopsiert werden. Ein großer Vorteil des TRUS ist die Möglichkeit, das Volumen der Prostata zu berechnen und die Stanzbiopsie unter sonographischer Kontrolle durchführen zu können (Altwein et al. 2003). Die diagnostische Domäne des TRUS ist die Biopsie. Die Sensitivität und Spezifität wird erhöht, wenn auch hier die DRU und der PSA-Wert zur Diagnosefindung herangezogen werden (Song et al. 2005).

1.4.3. Prostata spezifisches Antigen (PSA)

Mit der Einführung des PSA hat sich die Diagnostik und Therapieüberwachung des Prostatakarzinoms deutlich verbessert. Durch die häufig frühzeitigere Diagnose des Karzinoms ist die Inzidenz des Prostatakarzinoms deutlich gestiegen, besonders deshalb, weil es zu einer signifikant erhöhten Detektion des Prostatakarzinoms bei jüngeren Patienten gekommen ist. Dies hat zur Folge, dass der Tumor in einem viel früheren, Organ begrenzten und somit kurativen Stadium erfasst wird (American

Cancer society 2002; Rinnab et al. 2005). Die Bedeutung des PSA-Wertes, sowohl als Screeningparameter als auch als postoperativer Marker zur frühzeitigen Detektion eines Tumoredizivs wurde in zahlreichen Studien untersucht und nachgewiesen (Stamey et al. 1987).

Das PSA ist eine Glykoprotein-Serin-Protease mit einem Molekulargewicht von ca. 30.000 Dalton und wird von den Ductuli prostatae der Prostata gebildet. Es trägt zur Verflüssigung des Samens bei, der ohne PSA koagulieren würde (Altwein et al. 2003). Der Nachweis des PSA erfolgt im Serum mittels Radio- oder Enzymimmunoassay, hierfür gibt es in Deutschland vielfältige Testsysteme. Der PSA-Wert nimmt beim gesunden Mann mit der altersbedingten Vergrößerung der Prostata zu (Gann et al. 1995). Ein erhöhtes PSA kann verschiedene Ursachen haben. Ein Prostataadenom, ein Prostatakarzinom, sowie auch entzündliche Prozesse oder Manipulationen an der Prostata (Katheter, DRU, Biopsie, Zystoskopie) können zu erhöhten Werten führen (Sökeland et al. 2002).

Zum jetzigen Zeitpunkt stellt der Wert von 4ng/ml in Kombination mit einem suspekten Tastbefund oder einer auffälliger TRUS die Indikation zu einer weiteren Abklärung mittels transrektaler Biopsie (Catalona et al. 1991). Der Bereich zwischen 4-10ng/ml wird auch als Grauzone beschrieben, da innerhalb dieser Konzentrationen ein Prostatakarzinom von einer möglichen benignen Hyperplasie (BPH) aufgrund des PSA-Wertes allein nicht unterschieden werden kann (Partin et al. 2003). Um die Spezifität des PSA-Wertes zu erhöhen und somit die Anzahl unnötiger Biopsien zu verringern, kann man sich in der Diagnostik des Prostatakarzinoms verschiedener PSA-Untereinheiten bedienen:

- **PSA-Dichte:**

Die PSA-Serumkonzentration steigt mit zunehmenden Prostatavolumen an. Der Quotient zwischen PSA und Volumen der Prostata verbessert die Differenzierung zwischen einer benignen Prostatahyperplasie und einem Karzinom. Ein PSA-Dichtewert von $>0,15\text{ng/ml}$ gilt als prostatakarzinomverdächtig und erfordert eine weitere Abklärung (S3-Leitlinien PCA 2009).

- **PSA-Anstiegsrate (Velocity):**

Eine Anstiegsrate von $>0,75\text{ ng/ml pro Jahr}$ gilt als malignomverdächtig (Fang et al. 2002).

- **Altersspezifischer PSA-Wert:**

Mit fortschreitendem Alter und zunehmender benigner Prostatahyperplasie nimmt der PSA-Wert zu. Somit verschiebt sich der Wertebereich für karzinomverdächtige PSA-Werte im Alter nach oben (Gann et al. 1995).

- **Quotient freies PSA und gesamtes PSA (fPSA/tPSA):**

Es gibt 2 Hauptformen des PSA im Serum, das freie PSA (fPSA: 10-40%) und das komplexe PSA (60-90%). Je kleiner der Quotient aus freien PSA und Gesamt-PSA ist, desto wahrscheinlicher ist ein Prostatakarzinom (Roehl et al. 2002; Catalona et al. 1998).

Das PSA ist als diagnostischer Parameter für das Prostatakarzinom unentbehrlich geworden. Ebenso ist es im Hinblick auf die Verlaufsbeobachtung und Therapiekontrolle ein unersetzlicher Parameter. Da nach radikaler Prostatektomie das gesamte Prostatagewebe entfernt ist, kann ein erhöhter PSA-Gradient nur durch ein latentes Rezidiv und/oder durch eine Metastasierung bedingt sein. Sinkt andererseits der Wert unter Therapie in den Normalbereich bzw. unter die Nachweisgrenze, bestehen gute Chancen für eine lange Ansprechdauer der Therapie (Fowler et al. 1995).

1.4.4. Prostatastanzbiopsie

Die Prostatastanzbiopsie wird zur Diagnosesicherung herangezogen und hat ihren Einsatz bei einem suspekten Tastbefund, bei suspekten Arealen im TRUS und/oder bei erhöhten PSA-Werten > 4 ng/ml. Die Stanzbiopsie erfolgt transrektal und unter sonographischer Kontrolle und ist Goldstandard für die Diagnosesicherung des Prostatakarzinoms (Djavan B et Margreiter M 2007).

Im Vergleich zur digital geführten Prostatastanzbiopsie hat sie eine höhere Karzinom-Erkennungsrate (Renfer et al. 1995; Turkeri et al. 1995). Stanzbiopsien werden in den bekanntermaßen häufigsten Tumorregionen, vorwiegend also von lateral entnommen. Heute gilt die systematische Mehrfachbiopsie als Standardverfahren (Rinnab et al 2005). Die Anzahl der Biopsien hängt von dem durch TRUS ermittelten

Volumen der Prostata ab, beträgt aber mindestens 10-12 Biopsien (S3-Leitlinien PCA, 2009).

Bei PSA-Werten zwischen 4-10ng/ml kann man in 25-40%, bei PSA-Werten >10 ng/ml in 50-80% der Fälle mit einem positiven Biopsiebefund rechnen (Candas et al. 2000). In ungefähr 20-70% aller Biopsien findet sich gutartiges Gewebe. Negative Biopsiebefunde erfordern eine zeitnahe Rebiopsie, wobei in 10-20% ein Prostatakarzinom gefunden wird (Djavan et al. 2000). In der Studie von Rabbani et al (1998) konnte gezeigt werden, dass bei 23% der Patienten ein biopsisch gesichertes signifikantes Prostatakarzinom durch eine erneute Sextantenbiopsie übersehen wird. Um die Gefahr der Bakteriämie und Bakteriurie zu vermindern, erfolgt die transrektale Stanzbiopsie unter Antibiotikumschutz (Hammer P et Huland H 1994).

1.4.5. Computertomographie (CT)

Beim Staging des klinisch lokalisierten Prostatakarzinoms wird der CT eine untergeordnete Rolle zugeteilt, da mithilfe der CT extrakapsuläres Wachstum und Lymphknotenmetastasen nicht eindeutig beurteilbar sind. Die Berücksichtigung des präoperativen PSA-Wertes ist wegweisend. Beim Vorliegen von Metastasen oder szintigraphischem Verdacht auf eine Fraktur, kann die CT zur Diagnose von Fernmetastasen herangezogen werden (S3-Leitlinien PCA, 2009). In der Studie von Amo et al (1994) wird bei Patienten mit PSA-Werten unter 30 ng/ml keine CT-Bildgebung empfohlen, da der negative Vorhersagewert für die Existenz von Lymphknotenmetastasen 98% beträgt. Zur Darstellung der Tumorausdehnung des Prostatakarzinoms wird die CT zunehmend in Kombination mit einer Positronemissionstomographie als PET/CT eingesetzt (Igle et al. 2003). Laut aktueller S3 Leitlinie gibt es keine Evidenz, dass eine Cholin-PET-CT oder eine MRT beim Prostatakarzinom im Vergleich zur Knochenszintigraphie eine höhere Treffsicherheit für Knochenmetastasen besitzen. Trotz fehlender wissenschaftlicher Evidenz sollten unklare skelettszintigraphische Befunde durch MRT (1.Wahl) oder CT (2.Wahl) abgeklärt werden.

1.4.6. Knochenszintigraphie

Das Knochenszintigramm ist Diagnostik der Wahl bei Prostatakarzinompatienten, bei denen eine ossäre Metastasierung wahrscheinlich ist. Bei hoher Sensitivität (95%), ist die Untersuchung wenig spezifisch, da sämtliche Knochenumbauprozesse vergleichbare Veränderungen verursachen können (Scutellari et al. 2000). Ein Staging mittels Knochenszintigraphie sollte deshalb gemäss der S3 Leitlinie risikoadaptiert durchgeführt werden. Hierzu zählen

- PSA-Wert > 10 ng/ml (Prävalenz von Knochenmetastasen ca. 16 %);
- lokal fortgeschrittener Tumor (T3/4 mit einer Prävalenz von 47 %);
- Gleason-Score von > 7 (Prävalenz 28 %);
- Knochenschmerzen oder ein unklarer Anstieg bzw. Erhöhung der alkalischen Phosphatase.

Liegt ein Risikofaktor vor, wird eine Skelettszintigraphie im Rahmen des Primärstagings empfohlen. Bei einem PSA unter 10ng/ml ist die Rate an Knochenmetastasen bei einem Prostatakarzinom sehr niedrig (2,3 %), bei gleichbleibender Häufigkeit von falsch-positiven Befunden. Bei einem PSA unter 10 ng/ml, einer Gleason-Summe unter 7 und fehlenden Knochenschmerzen, kann vor radikaler Prostatektomie auf ein Knochenszintigramm verzichtet werden (S3-Leitlinien PCA, 2009).

1.4.7 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die MRT ist in der Lage die Prostata und die umliegenden Strukturen gut darzustellen (Hautmann et Huland 2006). Mit Einsatz der endorektalen Spule konnte eine verbesserte Abbildungsfähigkeit des Tumors erreicht werden (Hricak et al. 1994).

Im Vergleich zum TRUS kann eine MRT bei einem klinischen Verdacht auf ein PCA tumorverdächtige Areale besser lokalisieren. Bei ähnlich niedriger Spezifität wie der TRUS können gutartige Veränderungen jedoch nicht sicher vom Prostatakarzinom unterschieden werden (Reiner et Weishaupt 2008). Kleinere Studien haben den Wert der MRT in der Bildgebung nach erfolgloser Biopsie untersucht und negative

prädiktive Werte von 83- bis 100 % ermittelt. Ein negativer MRT-Befund nach mehrfacher negativer Biopsie kann dem Patienten eine erneute Biopsie ersparen (Coleman RE 2001). Bei unklaren skelettszintigraphischen Befunden ist die MRT Untersuchung der 1.Wahl und stellt somit ein geeignetes Hilfsmittel zur weiteren Abklärung und Therapieentscheidung (S3-Leitlinien PCA, 2009) dar.

1.5. Pathologie und Stadieneinteilung

1.5.1 Pathologie

Unabhängig vom morphologischen Erscheinungsbild müssen vier Erscheinungsformen des Prostatakarzinoms voneinander abgegrenzt werden (Altwein et Rübben 1991):

- **Klinisch manifestes Prostatakarzinom:**

Wird unabhängig von Symptomen oder vorhandener Metastasierung nach histologischer Verifizierung aufgrund eines suspekten Tastbefundes diagnostiziert.

- **Latentes Prostatakarzinom:**

Wird zufällig bei einer Obduktion festgestellt und war zu Lebzeiten unauffällig. In Autopsiestudien weisen 30-40% der über 50jährigen und 80% der über 80jährigen ein zu Lebzeiten symptomlos gebliebenes, latentes Karzinom auf (Breslow et al. 1977, Böergermann et Rübben 2006).

- **Inzidentelles Prostatakarzinom:**

Ein Tumor, der zufällig vom Pathologen im Operationsmaterial im Rahmen der operativen Behandlung einer benignen Prostatahyperplasie (z.B. TUR-P) gefunden wird.

- **Okkultes Prostatakarzinom:**

Wird bei symptomlosen Patienten mit unauffälligem Prostatabefund primär durch metastatische Absiedlungen manifest.

1.5.2. Stadieneinteilung

Das Adenokarzinom der Prostata wird international üblicherweise nach dem TNM-System der UICC (Union internationale contre le cancer) klassifiziert. Die Bewertung erfolgt anhand der Größe und der lokalen Ausbreitung des Primärtumors (T=Tumor), der regionären Lymphknoten (N=Noduli), sowie möglicher Fernmetastasen (M=Metastasen). Für die endgültige Stadieneinteilung ist die histopathologische Untersuchung des Operationspräparates maßgeblich. Seit 1997 modifiziert und klassifiziert einheitlich folgende TNM-Einteilung das Prostatakarzinom (Hammerer P 2004; Wittekind et Meyer 2010):

UICC	
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Tumor weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar
T1a	Zufälliger Befund, < 5% des Gewebes
T1b	Zufälliger Befund, > 5% des Gewebes
T1c	Diagnose durch Nadelbiopsie
T2	Tumor begrenzt auf Prostata
T2a	Tumor auf einen Lappen begrenzt
T2b	Tumor auf beide Lappen begrenzt
T3	Extrakapsuläre Ausbreitung
T3a	Samenblasen frei
T3b	Samenblasen mitbefallen
T4	Tumor fixiert oder mit Infiltration anderer Nachbarstrukturen als der Samenblasen
N	Lymphknotenmetastasen
Nx	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionäre Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen
M	Fernmetastasen
Mx	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Nicht regionäre Lymphknoten
M1b	Knochenmetastasen
M1c	Andere Lokalisation(en)

Tabelle 1: TNM-Klassifikation nach UICC (Wittekind et Meyer 2010)

1.5.3. Gleason score

Aus Gründen der internationalen Vergleichbarkeit hat sich der Gleason Score als histopathologisches Grading etabliert. Der Gleason-Score ist neben dem PSA-Wert und der TNM-Klassifikation einer der wichtigsten Prognosefaktoren des Prostatakarzinoms und trägt zur Therapieentscheidung bei.

Bei einer Skalierung von 1-5 werden verschiedene Wachstumsmuster unterschieden, wobei Grad 5 stark entdifferenzierte Tumoren beschreibt. Bewertet wird das Tumorgewebe mit der höchsten und zweithäufigsten Differenzierungsrate und zusammen addiert: z.B. Gleason Score 5 (2+3). Demnach hat den niedrigsten Malignitätsgrad ein Score von 2 (1+1) (Humphrey PA 2004).

1.6. Tumorausbreitung und Metastasierung

1.6.1 Tumorausbreitung

Die pathohistologische Aufarbeitung von Operationspräparaten nach radikaler Prostatektomie zeigt, dass die periphere Zone der Drüse bei über 90% der Karzinome Ursprungsort des Prostatakarzinoms ist. In ca. 85% der Fälle lässt sich ein multifokales Tumorstadium, in 3% ein Wachstum in der periurethralen Zone nachweisen. Die Tumorausbreitung erfolgt primär nach zentral und anschließend nach peripher (Altwein et al. 2003). Das Karzinom wächst bevorzugt in Richtung Apex der Prostata. Bei weiterem Fortschreiten erfolgt die Penetration der Prostatakapsel, diese stellt eine prognostisch relevante Barriere dar. Zur Durchdringung werden bevorzugt die Perineuralspalten der Nervendurchgangsstellen benutzt. Kapselpenetration und Samenblaseninfiltration sind Zeichen für ein lokal fortgeschrittenes Wachstum (Hautmann et Huland 2006).

1.6.2. Metastasierung

Im Allgemeinen erfolgt zunächst die lymphogene vor der hämatogenen Streuung. Die Erste Station der **lymphogenen** Streuung sind die Lymphknoten der Fossa obturatoria; diese werden beim Lymphknotenstaging als Indikator für positive oder negative Lymphknotenausbreitung benutzt.

Das nächste Feld sind die Lymphknoten entlang der V.iliaca externa und der paraaortalen Region. Erst hiernach werden die mediastinalen und supraclaviculären Lymphknoten befallen (Hautmann et Huland 2006).

Prädilektionsstelle für die **hämatogene** Aussaat ist das Skelettsystem. Typischerweise handelt es sich um osteoblastische Metastasen, die am häufigsten

die Lendenwirbelkörper und dann in abnehmender Reihenfolge Femur, Becken, Brustwirbelsäule und Rippen befallen. Über 85% der an einem Prostatakarzinom verstorbenen Patienten weisen Skelettmetastasen auf (Altwein et al. 2003). Selten sind viszerale Organe betroffen, wie die Lunge (13-38%) oder die Leber (13-22%) (Hautmann et Huland 2006).

In einem gesonderten Kapitel wird später detailliert auf Abläufe bei Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms eingegangen.

1.7. Therapie des Prostatakarzinoms

Die Therapie des Prostatakarzinoms richtet sich nach

- dem Alter und den Komorbiditäten des Patienten,
- der Prognose, gestützt auf das klinische Stadium, Gleason-Score, Differenzierungsgrad und Tumorausdehnung der Stanzbiopsie, sowie der perineuralen Infiltration und
- dem Wunsch des Patienten (Boccon-Gibod 1994).

Unter einem lokal begrenzten Prostatakarzinom versteht man eine Tumorausbreitung, die das Organ nicht überschreitet (pT1-2, N0, M0). Das lokal fortgeschrittene Prostatakarzinom kann durch eine Prostata kapselpenetration die Samenblasen infiltrieren (pT3, N0, M0, siehe Tabelle 1, Seite 17, Wittekind 2010).

Wait and see

Bei gut differenzierten T1-Tumoren und Patienten mit einer voraussichtlichen Lebenserwartung von weniger als 10 Jahren ist ein „wait and see“-Vorgehen angezeigt. Für einen Mann mit einem mäßig oder schlecht differenzierten, organbegrenzten Prostatakarzinom, dessen voraussichtliche Lebenserwartung mehr als 10 Jahre beträgt, stellt bei einer Progressionswahrscheinlichkeit von 16% eine abwartende Behandlung keine optimale Behandlungsoption dar (Albertsen et al. 1996;1998).

Retropubische radikale Prostatektomie (RRP)

Das organbegrenzte Stadium (T1b-T2, N0, M0) ist die klassische Indikation zur radikalen retropubischen Prostatektomie (RRP) mit pelviner Lymphadenektomie (S3-Leitlinien PCA 2009). Nach RRP liegt die progressionsfreie 10-Jahres-Überlebensrate für das Stadium T1 und T2 bei 80-90%, bei Kapselüberschreitung (pT3) sinkt sie dagegen auf 58% ab (Epstein et al. 1996, Seidl et al. 1997). Im Vergleich zur hochdosierten perkutanen Strahlentherapie oder zur kombinierten Afterloadingtherapie ist die lokale Rezidivrate nach Radikaloperation im organbegrenzten Stadium geringer. Bei einem lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom stehen die RRP und die Strahlentherapie in Hinsicht auf Rezidiv- und Überlebensraten gleichwertig nebeneinander (S3-Leitlinien PCA 2009; Teh et al. 2006; Petrovic et al. 1998).

Bei zu großem Operationsrisiko oder auf Wunsch des Patienten kann neben der RRP die Strahlentherapie in kurativer Absicht in Erwägung gezogen werden (Heidenreich et al. 2008). Eine optimierte Strahlentherapie in einem frühen Stadium des Prostatakarzinoms kann dabei eine Langzeitheilung von ca. 70% erreichen (Kupelian et al. 2005).

Strahlentherapie

Die Strahlentherapie kommt bei einem lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom (T3, N0, M0) als alternative Therapiemöglichkeit in Frage, da die Überlebensraten nach einer RRP oder einer Strahlentherapie in diesem Stadium nicht wesentlich voneinander abweichen (Teh et al. 2006; Morris et al. 1997). Als adjuvante Behandlung nach operativer Therapie führt die frühzeitige strahlentherapeutische Behandlung zu einer deutlich niedrigeren fokalen Rezidivrate und einem geringgradig verbesserten Überleben. Dabei können 5-Jahres-Überlebensraten von 70% und eine lokale Tumorkontrolle von knapp 90% erzielt werden, die den Daten der RRP gleichwertig sind (Anscher et al. 1995; Wiegel et al. 1995). Strahlentherapie kann als Hochvolt-Radiatio von außen erfolgen (high dose radiation HDR). Hierbei wird mit maximal 74Gy bestrahlt. Bei der Brachytherapie (low dose radiation LDR) werden radioaktive Partikel in das zu bestrahlende Gewebe eingeführt und später wieder entfernt. Die Brachytherapie kann zusätzlich mit Hochvolt-Radiatio von außen kombiniert werden (Zelevsky et al 2007).

Hormondeprivation

Bei lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom kann eine Androgenbehandlung entweder als primäre Behandlungsoption oder adjuvant nach radikaler Operation in Erwägung gezogen werden (Bolla et al. 2002;1995). Dabei kann sie chirurgisch durch eine bilaterale Orchiectomie oder mithilfe von GnRH-Analoga, Antiandrogenen oder Östrogenen erfolgen (Sökeland et al. 2002). GnRH-Analoga haben im Vergleich zur radikalen bilateralen Orchiectomie für den Patienten eine geringere Nebenwirkungsrate und werden zunehmend bevorzugt eingesetzt (Seidenfeld et al. 2000). Eine frühzeitige adjuvante Hormontherapie in der Therapie des lokal metastasierten Prostatakarzinoms wird von vielen Studiengruppen empfohlen und zeigt ein längeres Überleben der Betroffenen (Scutellari et al. 2000; Schrijvers D. 2007). In zuletzt veröffentlichten Studien wurde gezeigt, dass bereits eine sechsmonatige Androgenblockade die Überlebenschancen von High-Risk-Patienten (T3, Gleason>8, N+) verbessert (D'Amico et al. 2004). Die Ansprechrate der antiandrogenen Therapie lässt in der Regel bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom nach 2-3 Jahren nach, was in vielen Fällen durch auftretende Knochenschmerzen, Lymphabflussstörungen oder Harnblasenentleerungsstörungen erkennbar wird. In diesem Stadium kann man eine Monotherapie in eine komplette Androgenblockade überführen. Ist eine Umstellung der Hormontherapie nicht sinnvoll, bietet sich bei bestehender Symptomatik eine chemotherapeutische Behandlung an (Miller et al. 2006).

Chemotherapie im hormonrefraktärem Stadium (HRPCA)

Das hormonrefraktäre PCA ist durch eine hohe Chemorefraktärität gekennzeichnet, die die Entwicklung einer kurativen oder lebensverlängernden Therapie noch nicht zugelassen hat. Sie ist bisher rein palliativ. Zumeist hat die Chemotherapie ihren Einsatz bei der Behandlung eines Tumorrezidivs und versagender Hormontherapie. Standardtherapie ist die fortlaufende Androgenblockade kombiniert mit einer Docetaxel-basierten zytostatischen Chemotherapie. Hierdurch kann eine Verlängerung des Gesamtüberlebens (mittlerer Überlebensvorteil von ca. 2 Monaten) unter deutlicher Verbesserung von Schmerz und Lebensqualität bei akzeptablem Nebenwirkungsprofil erreicht werden. Darüber hinaus sollte bei Patienten mit Knochenmetastasen die Einleitung einer Therapie mit Bisphosphonaten erfolgen, da sie in der Zellkultur eine antiproliferative Wirkung zeigen und die Osteoklasten

hemmen. Dadurch konnte die Rate an Skelettkomplikationen, wie zum Beispiel pathologische Frakturen, reduziert werden. Zoledronsäure ist bei HRPKA-Patienten mit ossärer Filiarisierung das Therapeutikum der Wahl (Schrijvers et al. 2007; Miller et al. 2006).

Die Suche nach den geeigneten Prognosefaktoren für das Prostatakarzinom ergibt sich aus der Notwendigkeit einer altersangepassten, risikoorientierten Indikationsstellung zur Therapie. Trotz einer Vielzahl publizierter Studien über geeignete Prognosefaktoren und Modifizierung vorhandener Parameter, scheinen vorhandene (PSA, Gleason Score, T-Stadium) nicht ausreichend zu sein. Durch eine Verbesserung statistischer Methoden und Einbeziehung neuerer Serummarker wie z.B. den Knochenstoffwechselfaktoren, wird eine Verbesserung der Vorhersagegenauigkeit erhofft, um so eine Übertherapie beim Prostatakarzinom zu vermeiden. High-Risk-Patienten (pT3, Gleason >8, N+), die aufgrund dieser Konstellation eine hohe Rezidiv- und sogar Metastasenwahrscheinlichkeit im Vergleich zu Patienten mit einem organbegrenzten Tumor aufweisen, könnten somit zukünftig eine effektivere Therapie erhalten.

1.8. Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms

Der Hauptmanifestationsort der Metastasen des Prostatakarzinoms ist das Knochenskelett. Damit ist das Prostatakarzinom neben dem Mamma-Ca eines der am häufigsten in den Knochen metastasierende Tumore.

Bei einer Metastasierung in den Knochen unterscheidet man zwischen osteoblastischen und osteolytischen Metastasen. Während das Mamma-Ca vorwiegend osteolytische Metastasen bildet, sind die Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms hauptsächlich vom osteoblastischen Typ (Tamada et al. 2001; Coleman et al. 2001; Mundy G.R. 2002). Durch eine Freisetzung von Cytokinen und Wachstumsfaktoren durch die Tumorzelle wird das Gleichgewicht zwischen Knochenformation und Knochenresorption gestört (Yin et al. 1999; 2000). Eine Osteolyse erfolgt über Osteoklasten stimulierende Faktoren, wie z.B. das Parathormon relevante Hormonpeptid. Dies führt zu einer Zerstörung des Knochens und zu einem erheblichen Knochenverlust (Boyde et al. 1986). Abb. 2 verdeutlicht das Prinzip der Osteoklastenstimulierung durch die Tumorzelle.

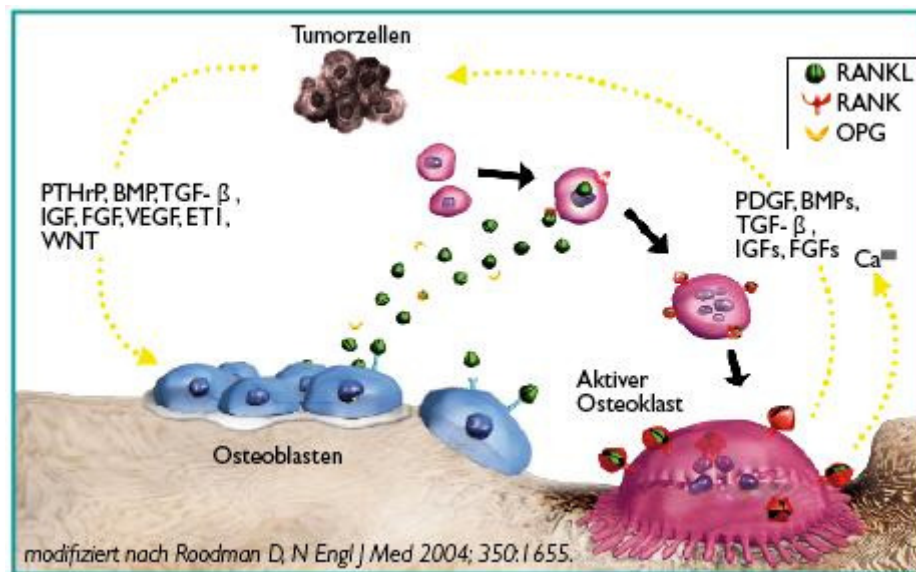


Abbildung 2: Osteoklastenstimulierung durch die Tumorzelle (Roodman 2004).

Der Knochenaufbau steht in einem Gleichgewicht mit dem Knochenabbau, weshalb bei einer Aktivierung von Osteoklasten gleichzeitig über Osteoblasten der Knochenaufbau stimuliert wird (Mundy G.R. 2002).

Ähnlich wie bei osteolytischen Metastasen verläuft der Vorgang auch bei Metastasen vom osteoblastischen Typ. Tumorzellen, die den Knochen erreichen, aktivieren Wachstumsfaktoren wie z.B. Endothelin-1. In verschiedenen Studien konnte *in-vitro* gezeigt werden, dass durch die Zugabe von Endothelin-1-Antagonisten die Osteoblastenproliferation gehemmt werden konnte (Yin JJ 2000; siehe Abb.3).

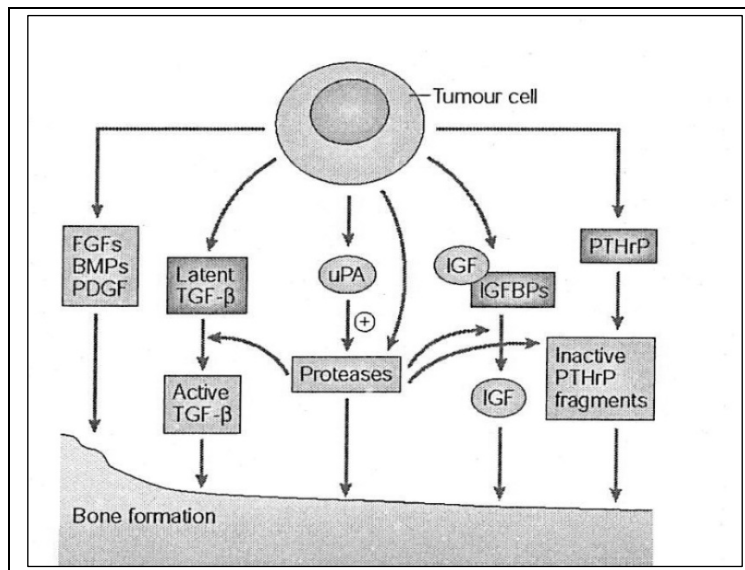


Abbildung 3: Mechanismen der Osteoblastenaktivierung durch die Tumorzelle
(Mundy G.R. 2002).

Etwa 10% aller Prostatakarzinom-Patienten haben bereits bei der Primärdiagnose des Prostatakarzinoms einen Knochenbefall. Im fortgeschrittenen Stadium erhöht sich die Zahl auf ca. 70% (Coleman RE 1997). Hinzu kommt, dass die Patienten durch ihr höheres Alter für Knochenverletzungen anfälliger sind und eine antiandrogene Therapie den Knochen zusätzlich angreift (Pfielschifer et al. 2000; Hussain et al. 2003). Knochenmetastasen können zu Knochenschmerzen, pathologischen Frakturen, Hyperkalzämie und zu einer Kompression des Rückenmarks führen, wodurch die Lebensqualität und die Lebenserwartung der Patienten massiv beeinträchtigt werden kann (Tamada et al. 2001).

Nach einer initialen Therapie sind für mögliche Knochenmanifestationen vor allem folgende Variablen wichtig: Das Alter des Patienten, der PSA-Wert, der Gleason-Score und die TNM-Klassifikation. Zur Zeit werden diese Variablen als Voraussagewert für das Rezidivrisiko nach einer erfolgten Therapie eingesetzt. Ansteigende PSA-Werte, Knochenschmerzen und pathologische Frakturen machen einen Knochenbefall wahrscheinlich. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass bei einem PSA-Wert höher als 100 µg/l mit großer Wahrscheinlichkeit mit Metastasen zu rechnen ist. Dabei hat PSA eine unterschiedlich hohe Sensitivität (48-83%) (Miller et al. 1992; O'Donoghue et al. 1993; Lorente et al. 1996). Von vielen Studien wird die Fähigkeit dieser Parameter zur Voraussage für ein Tumorzidiv als nicht

aussagekräftig genug gewertet, da nicht dynamische Vorgänge beurteilt werden (Kattan et al. 1997, Dotan et al. 2005).

Trotz ausreichender Modifizierung des PSA-Wertes in der Diagnostik und Verlaufsbeobachtung des Prostatakarzinoms, bleibt PSA ein statischer Prognosefaktor mit limitierter Spezifität. Patienten mit (lokal) fortgeschrittenem Tumor sind besonders durch Knochenmetastasen gefährdet, die zu erhöhten Umbauvorgängen am Knochen führen. Für die Beschreibung dieser dynamischen Prozesse am Knochen sind Marker erforderlich, die als direkte oder indirekte Produkte des Knochenstoffwechsels über ihr Ansteigen oder Abfallen die Vorgänge widerspiegeln.

Mittlerweile hat sich eine Gruppe biochemischer Marker etabliert, die bei erhöhtem Knochenmetabolismus im Serum und Urin nachgewiesen werden und der Forderung, effektiver die Umbauvorgänge am Knochen zu beschreiben, gerecht werden.

In der Verlaufsbeobachtung des Prostatakarzinoms, zur Erkennung eines Rezidives, sowie vor allem beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom, bei dem es mehrere Therapieoptionen gibt, kann über die Bestimmung der Knochenstoffwechselparameter im Blut oder Urin das Stadium der Krankheit besser erfasst werden und der Patient entsprechend gezielter und effektiver behandelt werden.

Insgesamt scheinen diese Parameter in der Detektion ossärer Metastasen des Prostatakarzinoms sehr vielversprechend.

1.9. Knochenstoffwechselparameter und ihre (klinische) Bedeutung beim Prostatakarzinom

Die Isolierung zellulärer und extrazellulärer Knochenmatrix führte in den letzten Jahren zur Entwicklung von Biochemischen Markern, die den Prozess der Knochenformation und Knochenresorption exakter als konventionelle Parameter erklären können. Sie haben in den letzten Jahren das diagnostische Spektrum zur Erfassung verschiedener Skeletterkrankungen effektiv erweitert. Im Allgemeinen unterscheidet man zwischen Markern, die die anabole Phase des Knochenumbaus beschreiben und Markern, die den Knochenabbau widerspiegeln.

Formationsmarker sind direkte oder indirekte Produkte der osteoblastären Aktivität. Resorptionsmarker entstehen physiologisch als Endprodukt des Knochen-

kollagenabbau (Seibel MJ 2000). Tabelle 2 und 3 zeigen einen Überblick über die in der Literatur vorhandenen Parametern und deren Bestimmungsort.

Marker:	Abkürzung:	Bestimmungsort:
Alkalische Phosphatase	ALP	Serum
Knochenspezifische ALP	BALP	Serum
Osteocalcin	OC	Serum
Carboxyterminales Propeptid des Typ-I-Prokollagen	PICP	Serum
Aminoterminal Propeptid des Typ-I-Prokollagen	PINP	Serum

Tabelle 2: Marker für den Knochenaufbau

Marker:	Abkürzung:	Bestimmungsort:
Tartrat-resistente Saure Phosphatase	TRACP	Serum, Plasma
Carboxyterminale quervernetzte Telo peptide des Typ-I-Kollagen	CTX, β -Crosslaps	Urin, Serum
Aminoterminal quervernetzte Telo peptide des Typ-I-Kollagen	NTX	Urin, Serum
Hydroxyprolin	Hyp	Urin
Pyridinoline	PYD	Urin, Serum
Desoxypyridinoline	DPD	Urin, Serum

Tabelle 3: Marker für den Knochenabbau

Knochenumbauvorgänge im Rahmen physiologischer und pathologischer Prozesse führen sowohl zu einem Anstieg als auch Abfall der Konzentration biochemischen Marker im Serum oder Urin (siehe Tabelle 4).

Alter	AP	Osteocalcin	β-CTX	TRACP5b
Neugeborene	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Pubertät	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Erwachsenenalter				
Männer:				
20-40 Jahre	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
40- 50 Jahre	↑	↑	↑	↑
> 80 Jahre	↑↑	↑↑	↔	↔
Frauen:				
Prämenopausal	↑	↑	↑	↑
Postmenopausal	↑↑	↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Schwangerschaft	↑↑↑↑	↓↓	↑↑	↑↑
Medikamente:				
Glukokortikoide	↓	↓↓↓	↔	↔
GnRH-Agonisten	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
Frakturen	↑↑↑	↑↑↑	↑↑	↑↑
Immobilität	↔	↔	↑↑	↑↑
Knochenmetast.	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑

Tabelle 4: Biochemische Marker und Knochenumbauvorgänge (modifiziert nach L.Thomas, Labor und Diagnose, 2005)

Obwohl die Metastasen des Prostatakarzinoms gewöhnlich vom osteoblastischen Typ sind, haben mehrere Studien, wie weiter oben aufgeführt, belegt, dass neben einem Osteoblasten stimulierenden Prozess, zusätzlich Osteoklasten aktiviert werden. Dies erklärt, dass bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom sowohl Knochenresorptions- als auch Knochenformationsmarker erhöht sind (Tamada et al. 2001; Percival et al. 1987; Garnero et al. 2000).

Die Knochenstoffwechselfparameter, die in dieser Studie evaluiert wurden sind:

Formationsmarker:

- Alkalische Phosphatase (AP)
- Osteocalcin (OC)

Resorptionsmarker:

- Kollagen Typ I Telopeptide (CTX)
- Tartrate-resistent Saure Phosphatase Typ 5b (TRACP 5b)

1.10. Alkalische Phosphatase

Die Alkalische Phosphatase (AP) ist ein Zellmembran-gebundenes Glykoprotein und kommt in allen Zellen vor. Hierunter wird eine Gruppe von Isoenzymen zusammengefasst, die auf den Chromosomen 1 und 2 aus vier verschiedenen Genen kodiert werden (Lothar T 2005). Zu dieser Gruppe gehören das intestinale, das plazentare, das gewebeunspezifische und das Keimzellisoenzym. Aus dem gewebeunspezifischen Enzym entstehen nach posttranslatorischer Modifikation weitere Isoformen (Leber-AP, Knochen-AP und Nieren-AP) (Lothar T 2005; Millan et al. 1995; Langlois et al. 1994). Insgesamt sind über 15 Isoformen der AP beschrieben worden. Sie unterscheiden sich allein in der Sialidierung der Kohlenhydratseitenketten des jeweiligen Isoenzym (Wallace et al. 1996). Die Leber-AP und Knochen-AP machen beim gesunden Erwachsenen zusammen fast über 90% der Gesamt-AP im Serum aus, wovon ca. 50% auf die Alkalische Knochenphosphatase (Knochen-AP) fallen (Green et al. 1971). Aufgrund der strukturellen Übereinstimmung der beiden Isoenzyme liegt die Schwierigkeit in der Differenzierung zwischen Knochen- und Leber-AP. Zur Differenzierung der Isoenzyme und Isoformen wurden in der Vergangenheit verschiedene Testverfahren angewandt. Dazu gehörten die elektrophoretische Trennung, die Hitzeinaktivierung und die Weizenkeim-Lektin-Präzipitation. Sie erwiesen sich bei hohem personellem und zeitlichem Aufwand als nicht ausreichend spezifisch für die Knochen-AP. In der Folge wurde eine große Anzahl an Immunoassays entwickelt, in denen mithilfe von monoklonalen Antikörpern die AP ausreichend spezifisch isoliert werden konnte

(Masuhara et al. 1992; Farley et al. 1994; Rosalky et al. 1984). Neuere immunobasierte Assays können die Knochenspezifische Phosphatase mithilfe von monoklonalen Antikörpern im Serum isolieren und anschließend durch Enzymaktivitätsmessung quantifizieren (Broyles et al. 1998).

1.11. Osteocalcin

Osteocalcin (OC) (bone gamma-carboxylglutamic acid-containing protein oder bone GLA protein) wurde erstmals 1975 im menschlichen und tierischen Körper entdeckt (Price et al. 1976).

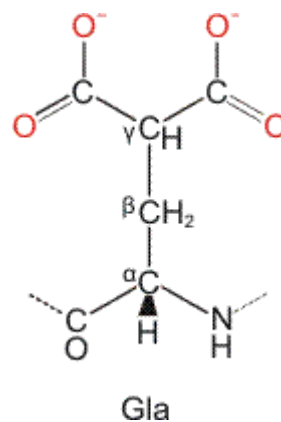


Abbildung 4 : Osteocalcin Strukturformel (Hoang et al. 2003)

OC ist ein Hydroxyapatit-bindendes Protein (MG 5800), das aus einem größeren Präkursormolekül (MG 9000) durch proteolytische Abspaltung entsteht. Es besteht aus 49 Aminosäuren und enthält an Position 17, 21 und 24 bis zu drei Gamma-Carboxy-Glutaminsäurereste (bone-GLA-Protein) (Calvo et al. 1996). Die γ -Carboxylierung ist für die Calciumbindungsfähigkeit des Moleküls notwendig (siehe Abb. 4). OC wird beim Menschen durch ein Gen auf dem Chromosom 1q25-q31 codiert und wird im Knochen durch die Osteoblasten und im Zahn durch Odontoblasten gebildet (de Broe et al. 1992). Dies wird durch $1,25(\text{OH})\text{VitD}_3$ induziert. Ein kleiner Anteil wird von Megakaryozyten und Thrombozyten gebildet. Während der Matrix-Mineralisierungsphase wird OC von den Osteoklasten aktiv gebildet und zum größten Teil in die organische Matrix eingebaut. Der geringe Anteil, der in die Zirkulation gelangt (ungefähr 10-40%), kann im Serum bestimmt werden und wird dort rasch durch Metallproteasen von Leber und Niere proteolytisch

abgebaut. Eine verminderte renale Clearance lässt die Werte von OC im Serum drastisch steigen. Die physiologische Rolle des OC besteht möglicherweise in der Regulation der Kalziumhomöostase und Hemmung der Präzipitation von Kalzium und Phosphat, sodass eine exzessive Mineralisierung verhindert wird (Lothar T 2005).

Durch die Entwicklung eines Osteocalcin-Knock-out-Maus-Models in den Neunziger Jahren konnte die Rolle des OC im Mineralisationsprozess präziser verdeutlicht werden. Dabei konnte bei den Osteocalcin-Knock-out-Mäusen eine Zunahme der kortikalen und trabekulären Masse und der mechanischen Stabilität des Knochens gemessen werden (Duvy et al. 1996). Bei einer Metastasierung in den Knochen ist OC als Marker für die Osteoblastenfunktion im Serum erhöht und zeigt ein der AP ähnliches Verhalten (Lothar T 2005).

1.12. Tartrate-resistant Saure Phosphatase Typ 5b

Die Gruppe der Sauren Phosphatasen besteht aus fünf Isoenzymen, die im Körper fast ubiquitär vorkommen. Hauptquellen sind Knochen, Prostata, Thrombozyten, Erythrozyten und Milz. Unterscheidungskriterium ist die Tartrat-Hemmbarkeit. Es wird zwischen Tartrat-sensibel und Tartrat-resistent unterschieden. Das Prostata-Isoenzym ist Tartrat-hemmbar, während die in der Osteoklasten-membran verankerte saure Phosphatase (TRACP 5b) durch Tartrationen nicht inhibiert wird (Seibel MJ 2000; Schmolke B 2001).

Tartrate-resistant Saure Phosphatase (TRACP 5b) ist eines von 2 Isoenzymen der Serum Tartrate Sauren Phosphatase. Die Unterscheidung zu Typ 5a erfolgt anhand der Sialinsäure. Spaltet man die Säurestruktur von Typ 5a ab, so kommt es zur Transformation in Typ 5b (Lam et al. 1981). TRACP 5b wird von den Osteoklasten gebildet und wird im Zuge der Knochenresorption in die Zirkulation freigesetzt (Lyubimova et al. 2004; Halleen et al. 2000, 2001; siehe Abb. 5).

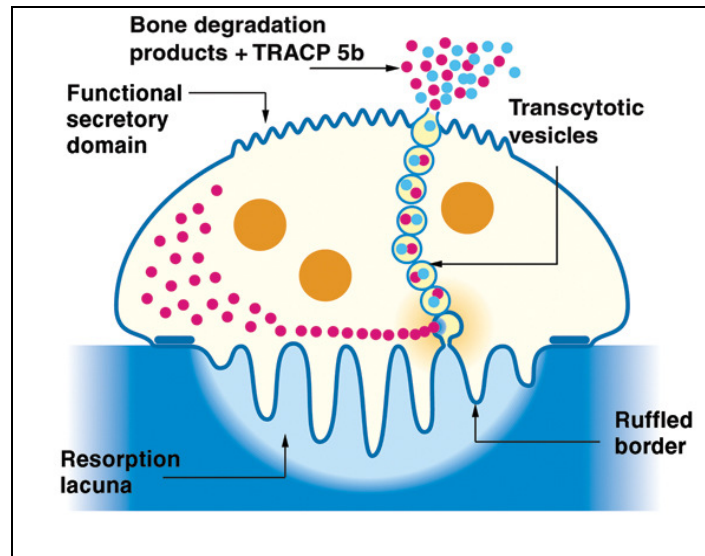


Abbildung 5: Kollagenabbau mithilfe von TRACP 5b (Immunodiagnosics Systems Holdings PLC)

TRACP 5a wird mit großer Wahrscheinlichkeit von Makrophagen exprimiert (Halleen et al. 2006). Zu den physiologischen Aufgaben von TRACP 5b gehört die Dephosphorylierung von Knochenmatrixproteinen wie Kollagen und Osteopontin (Scarnecchia et al. 1991; Halleen et al. 1996). Verschiedene Studien über den Knochenmetabolismus haben gezeigt, dass nur TRACP 5b, und nicht 5a, als Knochenresorptionsmarker bei einem knochenumbauenden Prozess ansteigt und die Aktivität der Osteoklasten sehr spezifisch widerspiegelt (Janckila et al. 2001; Halleen et al. 2002).

Ähnlich der AP liegt die Schwierigkeit in der Differenzierung zwischen beiden Isoformen. Die in der Vergangenheit zur Anwendung gekommenen Assays konnten nicht zwischen Typ 5a und 5b unterscheiden, da beide Isoformen im Test mit den gleichen Antikörpern reagierten. Durch Entwicklung neuer immunobasierter Assays und Verbesserung der Bestimmungsmethoden (Messung bei pH 6, dem Wirkungsoptimum von TRACP 5b), ist es mittlerweile möglich, gezielt nur die Isoform 5b darzustellen (Halleen et al. 2002; Lyubimova et al. 2004). Im Zuge dieser Entwicklung könnte die TRACP 5b zukünftig ein diagnostisch wertvoller Knochenresorptionsmarker werden.

1.13. Kollagen Typ I Telopeptide

Kollagen Typ I Telopeptide (CTX) entstehen als Abbauprodukte des Kollagens während der physiologischen Knochenresorption. Kollagen Typ I kommt nicht nur im Knochen vor, sondern ist Teil verschiedener Bindegewebsstrukturen. Die typische Kollagenfibrille hat die Struktur einer Tripelhelix mit einem N-terminalen und Carboxy-terminalen Ende, an denen sich drei Aminosäurenketten in nicht-helikaler Form befinden. Diese Enden sind die sogenannten Telopeptide. Sie sind für die Quervernetzungen zu den Aminosäuren der benachbarten Kollagenfibrille verantwortlich (Crosslinks) (De la Pedra et al. 2003; Hanson et al. 1992; Abb.6). Die carboxyterminalen Enden (CTX) werden von zwei α 1-Ketten und einer α 2-Kette gebildet.

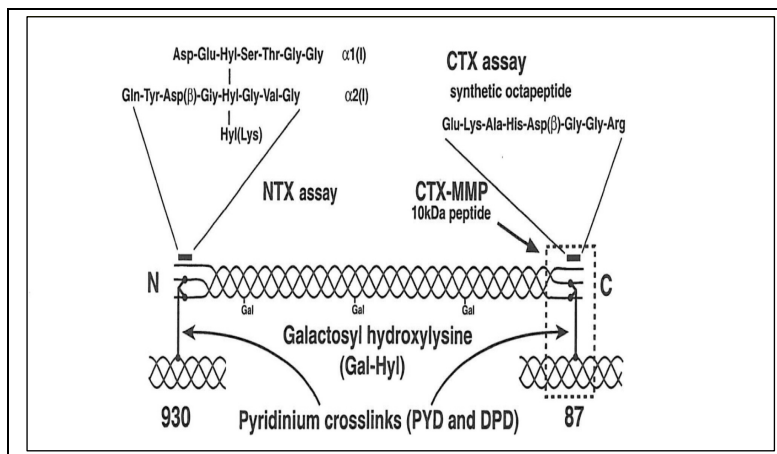


Abbildung 6: Molekulare Darstellung der Kollagenabbauprodukte (Seibel et al. 2000)

Die α 1- Ketten enthalten eine Sequenz von 8 Aminosäuren (EKAHDGGR). Innerhalb dieses Bereichs kann die Aminosäurefolge in einer α -isomeren oder β -isomeren Form vorkommen. Die isomerisierten Formen von CTX sind spezifisch für den Kollagen Typ I Abbau im Knochen. Mit zunehmendem Alter des Kollagens kommt es zur β -Isomerisation der Asparaginsäure bei Asp-Gly (D-G) (Fledelius et al. 1997). Nachdem die Telopeptide in den Kreislauf freigesetzt werden, erfolgt die Elimination über die Niere. Sie können danach sowohl im Urin als auch im Serum über empfindliche Assays gemessen werden (Garnero et al. 2001). Eine intakte Nierenfunktion wird hierfür vorausgesetzt.

Als Bestimmungsmethoden für eine Isolierung der Telopeptide sind in der Literatur verschiedene Assays beschrieben. Einer der ersten Assays wurde von Risteli et al. (1993) entwickelt. In diesem Radioimmunoassay reagierten Antikörper mit dem Bereich der Tripelhelix, die eine Quervernetzung (Crosslinks) aufwiesen. Peptide

ohne Quervernetzung reagierten nicht mit den Antikörpern. In der Folge wurden verschiedene Bestimmungsverfahren entwickelt, um die isomerisierten Formen der Aminosäuresequenz am carboxyterminalen Ende des Kollagen Typ I aus dem menschlichen Knochenstoffwechsel zu isolieren und zusätzlich voneinander unterscheiden zu können. Ein großer Fortschritt war die Entwicklung eines Assays, der speziell die β - isomere von der α -isomeren Form von CTX isolieren und quantifizieren konnte (Garnero et al. 2001).

CTX hat sich als fester Marker des Knochenstoffwechsels etabliert und wird zunehmend in der Diagnostik möglicher Metastasen eingesetzt.

1.14. Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit unter dem Titel

Evaluation des Knochenstoffwechsels anhand verschiedener Resorptions- und Formationsmarker im Serum bei Patienten mit lokalisiertem und fortgeschrittenem Prostatakarzinom

war das Ziel, prospektiv die Wertigkeit verschiedener Resorptions- und Formationsmarker in verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms zu evaluieren.

Bestimmt wurden die Parameter bei

- Patienten mit Knochenmetastasen eines Prostatakarzinoms (osPCA)
- Patienten mit klinisch lokalisierten Prostatakarzinom (cT2) und
- in einer Kontrollgruppe.

Dabei war es zum einen wichtig herauszufinden, inwieweit diese Parameter bei bereits existenten Knochenmetastasen ihre Wertigkeit nachweisen und inwieweit osteoblastische und osteoklastische Vorgänge existieren. Zum anderen, ob diese Parameter bei Patienten mit einem klinisch lokalisierten Prostatakarzinom nachweisbar sind, mit spezieller Betrachtung der histopathologischen Befunde nach Durchführung einer radikalen retropubischen Prostatektomie.

2. Material und Methodik

2.1. Studiengruppe

In die prospektive Studie wurden insgesamt 219 Patienten, die im Zeitraum von Juli 2004 bis Juni 2005 in der Klinik für Urologie und Kinderurologie des Universitätsklinikums Marburg behandelt wurden, eingeschlossen.

- **129 Patienten** vor radikaler retropubischer Prostatektomie (RRP) mit regionaler Lymphadenektomie bei klinisch lokalisiertem PCA und ohne den Nachweis von Knochenmetastasen im Knochenszintigramm,
- **25 Patienten** mit hormonrefraktärem Prostatakarzinom und gesicherten Knochenmetastasen aufgrund eines PCA (osPCA) und
- **65 Patienten** mit verschiedenen benignen urologischen Erkrankungen dienten als Kontrollgruppe.

Vor Therapie wurden folgende Knochenstoffwechselfparameter bestimmt:

- Alkalische Phosphatase (AP),
- Osteocalcin (OC)
- Tartrat-resistente Saure Phosphatase Typ 5b (TRACP5b) und
- Kollagen Typ I Telopeptide (CTX)

Die Diagnose des Prostatakarzinoms in den ersten beiden Gruppen wurde mittels Prostatabiopsie gestellt. Postoperativ erfolgte die histopathologische Einteilung gemäß der 2002-UICC Klassifikation durch das Pathologische Institut Marburg der Philipps-Universität (Wittekind et Meyer 2010). Kein Patient, weder in der Kontrollgruppe noch in der RRP Gruppe, erhielt eine medikamentöse Therapie, die den Knochenstoffwechsel beeinflusste. Bei allen Patienten bestand eine intakte Leber- und Nierenfunktion. Dem klinischen Staging dienten eine ausführliche körperliche Untersuchung, eine abdominale Sonographie und ein Knochenszintigramm, sowie wenn erforderlich ein MRT und CT.

2.2. Messung

2.2.1. Untersuchungsmaterial

Die Serum-Proben, die vor jedem operativen Eingriff morgens in nüchternem Zustand abgenommen wurden, wurden im Zeitraum von Juli 2004 bis Juni 2005 gesammelt.

Die Blutabnahme erfolgte durch den Doktoranden, benutzt wurden Plastik-Monovetten der Firma Sarstedt, Nürnberg. Die Proben wurden bei 2000g und 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Zur Langzeitaufbewahrung wurden die Proben bei -80 °C eingefroren. Die Verarbeitung der Proben erfolgte innerhalb 30 Tagen im hiesigen Zentrallabor des Institutes für Klinische Chemie der Philipps-Universität Marburg.

2.2.2. Verwendete Materialien

Das Labor für Klinische Chemie der Philipps-Universität Marburg verwendete folgende Materialien und Geräte:

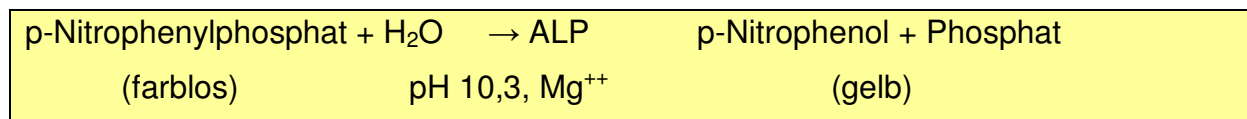
- Mikrotiterplattenschüttler, Schüttelfrequenz 950 Upm
- Mikrotiterplatten-Photometer, Filter für 405 nm
- Aqua ad iniectionem zur Herstellung von Waschpuffer und der Rekonstitution von Anti-TRAP-Antikörper, Standards und Kontrollen
- NaCl-Lösung 0,9% für Leerwerte
- ELECSYS 2010[®] (Firma *Roche Diagnostics*) mit folgenden Reagenzien:
 - o Systemreagenzien (Cleancell, Procell, Syswash, Pipettenspitzen, Reaktionscups)
 - o β -Crosslaps (Bestellnummer: 192308)
 - o Osteocalcin (Bestellnummer: 2149133)
 - o PreciControl Bone 1, 2 und 3
- BONE TRAP ASSAY[®] (Firma Medac; Bestellnummer 720-A)
- SYNCHRON LX[®] (Firma Beckman Coulter)

2.2.3. Alkalische Phosphatase (AP)

Die Messung der AP im Heparin-Plasma erfolgte am Analysator Hitachi 917 der Firma Beckman Coulter mit Original-Kit der Firma Roche Diagnostics, Mannheim.

Testprinzip

Mittels einer kinetischen Methode und eines 2-Amino-2methyl-1-propanol-Puffers (AMP) katalysiert die Alkalische Phosphatase die Hydrolyse von p-Nitrophenylphosphat (farbloses organisches Phosphatester-Substrat) zu gelbem p-Nitrophenol und Phosphat entsprechend folgendem Reaktionsschema:



Die Reaktion erfolgt bei einem pH von 10,3 und unter photometrischer Bestimmung bei 410 nm.

2.2.4. Osteocalcin (OC)

OC wurde im EDTA-Plasma am Elecsys 2010 Analysator (Elecsys N-MID Osteocalcin ECLIA, Roche Diagnostics) bestimmt.

Testprinzip

OC kommt als intaktes OC (Aminosäuren 1-49) und als großes N-MID Fragment (Aminosäuren 1-43) vor. Dieses resultiert daraus, dass auf Höhe von AS 43-44 das intakte Fragment aufgrund einer Proteasenspaltung instabil ist. Das entstehende N-MID Fragment ist deutlich stabiler.

Der N-MID Osteocalcin Elecsys Test verwendet zwei monoklonale Antikörper, die gegen Epitope auf dem N-MID Fragment und auf dem N-terminalen Fragment gerichtet sind. Das instabile C-terminale Fragment (Aminosäuren 43-49) stellt kein Epitop für die Antikörper dar. Somit werden durch diesen Test das stabile N-MID-Fragment und der intakte Anteil von OC erfasst und erlauben eine konstante Konzentrationsmessung des OC im Serum. Die Ausschüttung von OC unterliegt

einem circadianen Rhythmus. Fröhorgens sind die Werte erhöht, während am Nachmittag und am frühen Abend die niedrigste Konzentration erreicht wird. Das Maximum der höchsten Konzentration ist um 4 Uhr morgens beschrieben. Um vergleichbare Werte zu erhalten, sollte die Blutentnahme unter standardisierten Bedingungen, immer morgens und immer in einem nüchternen Zustand, erfolgen (Gundberg et al. 1985).

Referenzwerte

Der Hersteller (Firma Roche Diagnostics, Mannheim) gibt folgende Referenzwerte für gesunde Probanden an:

Probanden	N-MID Osteocalcin (ng/ml) 5.-95. Perzentile
Männer 18 bis < 30 Jahre	24 – 70
Männer 30 bis 50 Jahre	14 – 42
Männer > 50 – 70 Jahre	14 – 46
Frauen prämenopausal	11 – 43
Frauen postmenopausal	15 – 46

Der Messbereich liegt zwischen 0,5 – 300 ng/ml.

2.2.5. Tartrate-resistant Saure Phosphatase Typ 5b (TRACP 5b)

Die Aktivität von TRACP 5b wurde im Serum mit dem Bone TRAP Assay® der Firma Medac gemessen.

Testprinzip

Zu einer mit monoklonalen Anti-TRACP 5b-Antikörper beschichteten Mikrotiterplatte wird TRACP 5b-Standard, Kontrolle und die Patientenprobe gegeben. Durch Zugabe von Freisetzungsreagenz löst sich die aktive Form der TRACP 5b von dem Bindungsprotein und haftet an den Anti-TRACP 5b-Antikörper. Nichtgebundene

Phosphatasen werden durch Waschen entfernt. Es folgt die Inkubation mit p-Nitrophenylphosphat-Substrat. Nach Zugabe der Stopplösung (NaOH) erfolgt anschließend die photometrische Auswertung bei 405 nm. Da TRACP 5b auch in Erythrozyten vorkommt, muss bei der Blutentnahme eine Hämolyse verhindert werden. Nach der Probenentnahme ist auf eine ausreichende Stabilisierung des Enzyms zu achten (z. B. mittels Zitratpuffer), da die TRACP 5b bei Raumtemperatur und alkalischem pH-Wert innerhalb kürzester Zeit deutlich an Aktivität einbüsst (Lothar T 2005).

Referenzwerte

An gesunden Blutspendern wurden folgende Referenzwerte ermittelt (Firma Medac, Wedel):

Probanden	TRACP 5b (U/l)
Männer	3,1 +/- 1,6
Frauen ≤ 40 Jahre	2,5 +/- 1,4
Frauen ≥ 50 Jahre	2,8 +/- 1,6

Der Messbereich liegt zwischen 1 U/l bis 10 U/L.

2.2.6. Kollagen Typ I Telopeptide (CTX)

CTX wurde in EDTA Plasma am Elescsys 2010 Analysator bestimmt.

Testprinzip

Der β -Crosslaps/Serum Test zeigt spezifisch die isomerisierten Fragmente (β -isomerisierte Asparaginsäure) des Kollagen Typ I an. Das Prinzip des Testes ist die Verwendung von zwei monoklonalen Antikörpern, einem biotinyliertem monoklonalen Antikörper und einem mit Ruthenium-Komplex^a markierten monoklonalen Antikörper, die die lineare Oktapeptidsequenz β -8AA erkennen. Der Bereich der Quervernetzung mit der nächsten Kollagenfibrille wird durch die Antikörper nicht

aufgespürt. Somit werden nur alle Fragmente des Kollagenabbaus, die das isomerisierte Oktapeptid β -8AA zweifach enthalten, erfasst. Der Test ist nach einem Sandwich-Prinzip aufgebaut.

Referenzwerte

Folgende Referenzwerte gibt der Hersteller (Roche Diagnostics, Mannheim) für gesunde Probanden an:

Probanden	Serum-CTX (β -Crosslaps) MW +2 SD ng/mL
Männer 30-50 Jahre	0,584
Männer > 50-70 Jahre	0,704
Männer >70 Jahre	0,854
Frauen prämenopausal	0,573
Frauen postmenopausal	1,008

Der Messbereich lag zwischen 0,010-6,00 ng/mL.

2.3. Statistische Verfahren

Die statistische Datenauswertung erfolgte unter Einsatz des nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test und des nicht-parametrischen Kruskal-Wallis ANOVA-Test, um den Unterschied zwischen den Gruppen zu evaluieren unter Verwendung der SPSS®-Software for Windows. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet.

3. Ergebnisse

3.1. Studiengruppe

Insgesamt umfasste diese prospektive Untersuchung 219 Patienten:

Gruppe 1: 129 Patienten vor radikaler retropubischer Prostatektomie (RRP) inklusive regionaler Lymphadenektomie bei klinisch lokalisiertem PCA und ohne den Nachweis von Knochenmetastasen im präoperativ durchgeführten Knochen-szintigramm.

Gruppe 2: 25 Patienten mit hormonrefraktärem Prostatakarzinom und gesicherten Knochenmetastasen aufgrund eines PCA (**osPCA**) vor geplanter Taxan-basierter Chemotherapie.

Gruppe 3: 65 Patienten mit verschiedenen benignen urologischen Erkrankungen als Kontrollgruppe.

Postoperativ erfolgte die histopathologische Einteilung gemäß der UICC Klassifikation durch das Pathologische Institut der Philipps-Universität Marburg (Wittekind et Meyer 2010).

Nach histopathologischer Untersuchung des entnommenen Gewebes wurden die Patienten aus Gruppe 1 weiter in 2 Subgruppen unterteilt:

- 28 Patienten mit Lymphknotenmetastasen (n=28, medianes Alter 65,5J., **mPCA**) und
- 101 Patienten ohne Lymphknotenmetastasen (n=101, medianes Alter 66J., **IPCA**).

Tabelle 5 stellt die Alterverteilung des Studienkollektivs dar.

Gruppe	Altersspanne (Jahre)	Durchschnittsalter (Jahre)
gesamte Studiengruppe	43-88	66.1
Gruppe 1	47-84	66
Gruppe 2	43-88	70.5
Gruppe 3	54-78	67
mPCA	48-64	66
IPCA	47-78	65.6

Tabelle 5: Tabellarische Auflistung der Altersverteilung der Patienten.

3.2. Messergebnisse für AP, OC, TRACP5b und Serum-CTX

3.2.1. Ergebnisse

In Tabelle 6 sind die klinischen Patientendaten und die Messergebnisse geordnet nach den einzelnen Gruppen zusammengefasst. Das Prostatavolumen wurde in der Kontrollgruppe sowie in der Gruppe der ossär metastasierten Patienten nicht bestimmt.

	Kontrollgruppe	IPCA	mPCA	osPCA
Patientenanzahl	65	101	28	25
Alter, Jahren	67(54-78)	66(47-84)	65.5 (48-84)	70.5 (43-88)
PSA vor OP, ng/ml	4.7 (2.7)	7.9 (4.9)	19.7 (21.9)	108.5 (132)
Prostatavolumen(ml)	nicht bestimmt	40 (17.2)	32 (13.7)	nicht bestimmt
Tumorstadium				
pT2		91	12	nicht bestimmt
pT3		10	14	nicht bestimmt
pT4		0	2	nicht bestimmt
Gleasonsumme				
≤ 7		98	12	nicht bestimmt
>7		3	7	nicht bestimmt
ALP, U/l	63.5 (20.7)	73 (19.6)	88 (23.4)	381 (554.7)
Osteocalcin ng/ml	19 (15.3)	22 (7.9)	22 (7.3)	34.5 (20.5)
S-CTX, ng/ml	0.31 (0.27)	0.39 (0.2)	0.39 (0.26)	0.48 (0.42)
TRACP 5b, U/L	2.65 (1.0)	3.3 (0.94)	3.6 (0.84)	7.0 (3.6)

Tabelle 6: Zusammenfassung der klinischen Patientendaten und der gemessenen Knochenstoffwechselparameter der verschiedenen Gruppen (Median ± SD).

3.2.2. Knochenstoffwechselfparameter und präoperatives PSA

Tabelle 7 fasst die Ergebnisse der gemessenen Resorptions- und Formationsmarker zusammen. OsPCA-Patienten zeigten die höchsten Werte für sämtliche Knochenstoffwechselfparameter.

	Total ALP [U/l]	OC [ng/ml]	CTX [ng/ml]	TRACP5b [U/l]	PSA präOP[ng/ml]
Kontrollgruppe	63,5 (±20,7)	19 (±15,3)	0,31(± 0,27)	2,65 (±1,0)	4,7 (±2,7)
IPCA	73 (±19,6)	22 (±7,9)	0,39 (±0,2)	3,3 (±0,94)	7,9 (±4,9)
mPCA	88 (±23,4)	22 (±7,3)	0,39 (±0,26)	3,6 (±0,84)	19,7 (±21,9)
OsPCA	381 (±554,7)	34,5 (±20,5)	0,48 (±0,42)	7,0 (±3,6)	108,5 (±132)

Tabelle 7 : Mediane Serumwerte der gemessenen Resorptions- (TRACP5b, CTX) und Formationsmarker (OC, AP) und präoperativer PSA-Wert. Signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe sind gemarkert (±SD).

Signifikant erhöht waren Serumwerte für AP ($p < 0,001$), OC ($p < 0,05$) und TRACP 5b ($p < 0,001$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Hingegen zeigten sich für CTX keine signifikant erhöhten Werte ($p = 0,16$).

mPCA-Patienten hatten höhere Werte als Patienten ohne Lymphknoten-metastasierung. Besonders für TRACP5b ($p < 0,005$) und AP ($p < 0,05$) waren die Werte in der mPCA-Gruppe im Vergleich zu den Werten für CTX und OC signifikant erhöht (siehe dazu Tabelle 7 und Abb. 7). Zusätzlich zeigte diese Gruppe, wie erwartet, signifikant erhöhte präoperative PSA-Werte im Vergleich zur IPCA-Gruppe ($p < 0,001$). Abb. 8 verdeutlicht dies noch einmal. Die Kontrollgruppe zeigte die niedrigsten Werte der bestimmten Knochenstoffwechselfparameter.

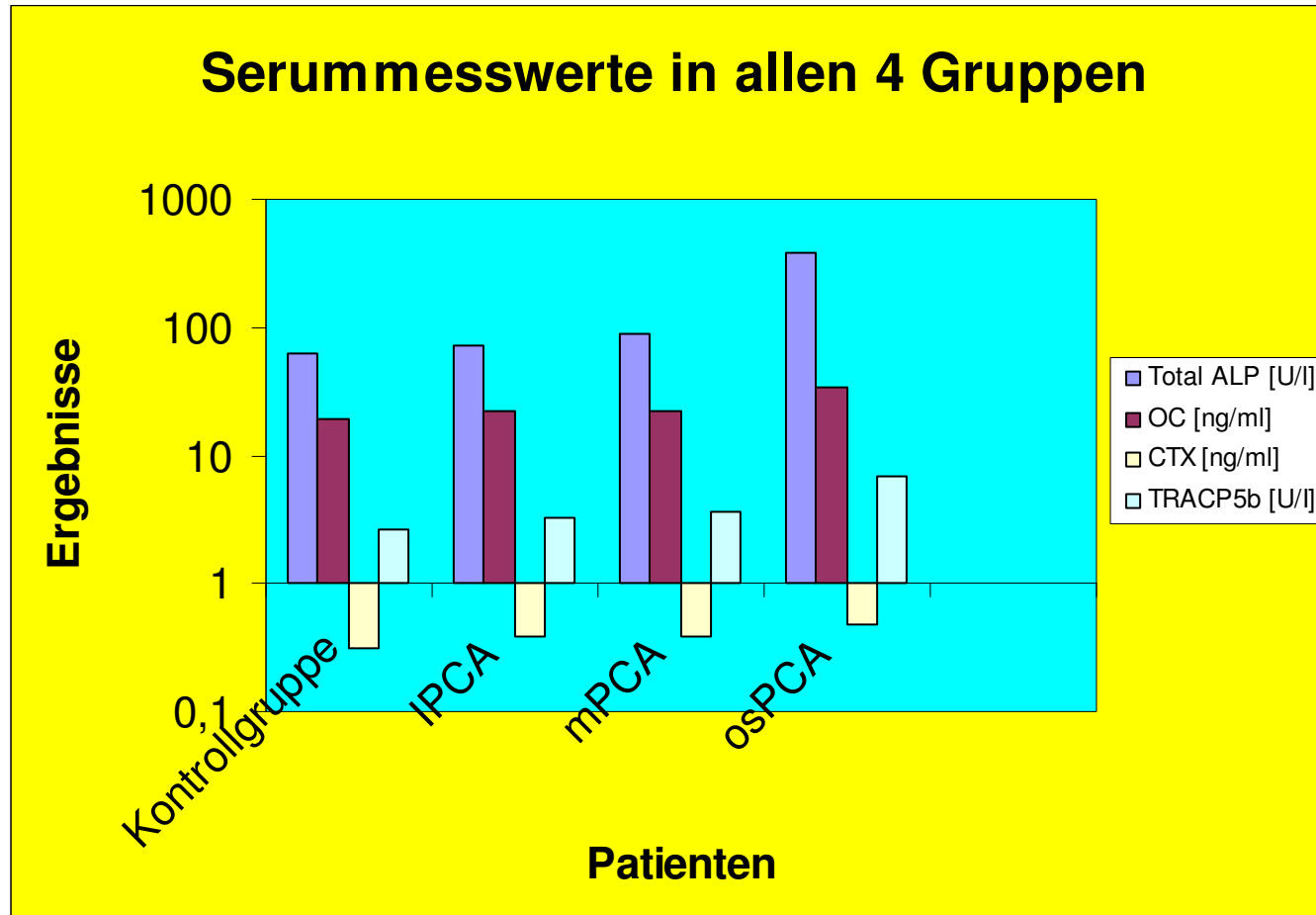


Abbildung 7: AP, OC, CTX und TRACP5b-Werte der verschiedenen Gruppen vergleichend aufgetragen in BOX-Plots.

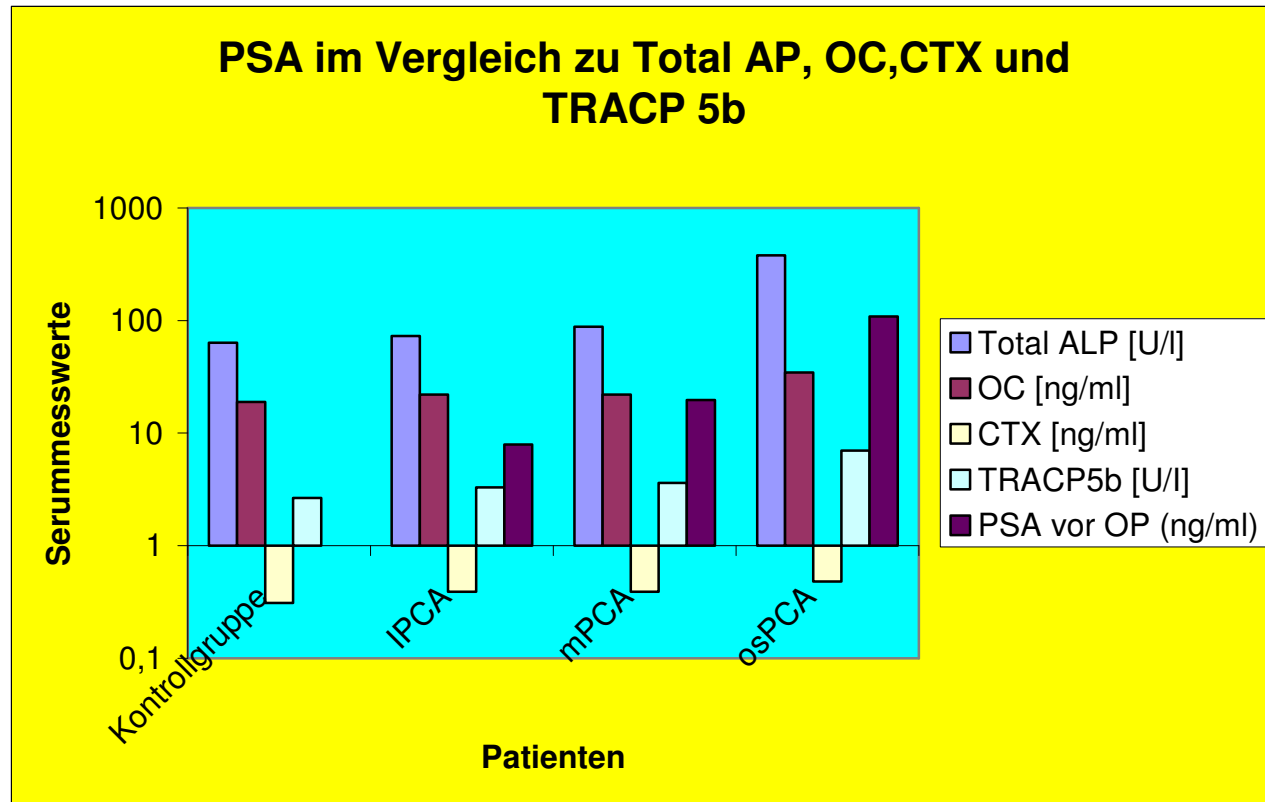


Abbildung 8: Der präoperative PSA-Wert im Vergleich zu den anderen im Serum gemessen Parametern.

3.3. Alkalische Phosphatase

Die AP zeigte die signifikant höchsten Werte bei osPCA-Patienten, wobei der Median bei 381 ng/ml (\pm Standardabweichung, $p < 0,001$, s. Abb. 9) lag. Ebenfalls signifikant erhöhte Werte der AP bot die mPCA-Kohorte (Median bei 88 ng/ml, \pm Standardabweichung). Bei der Kontrollgruppe lag der Median mit 63,5 ng/ml (\pm Standardabweichung) niedriger.

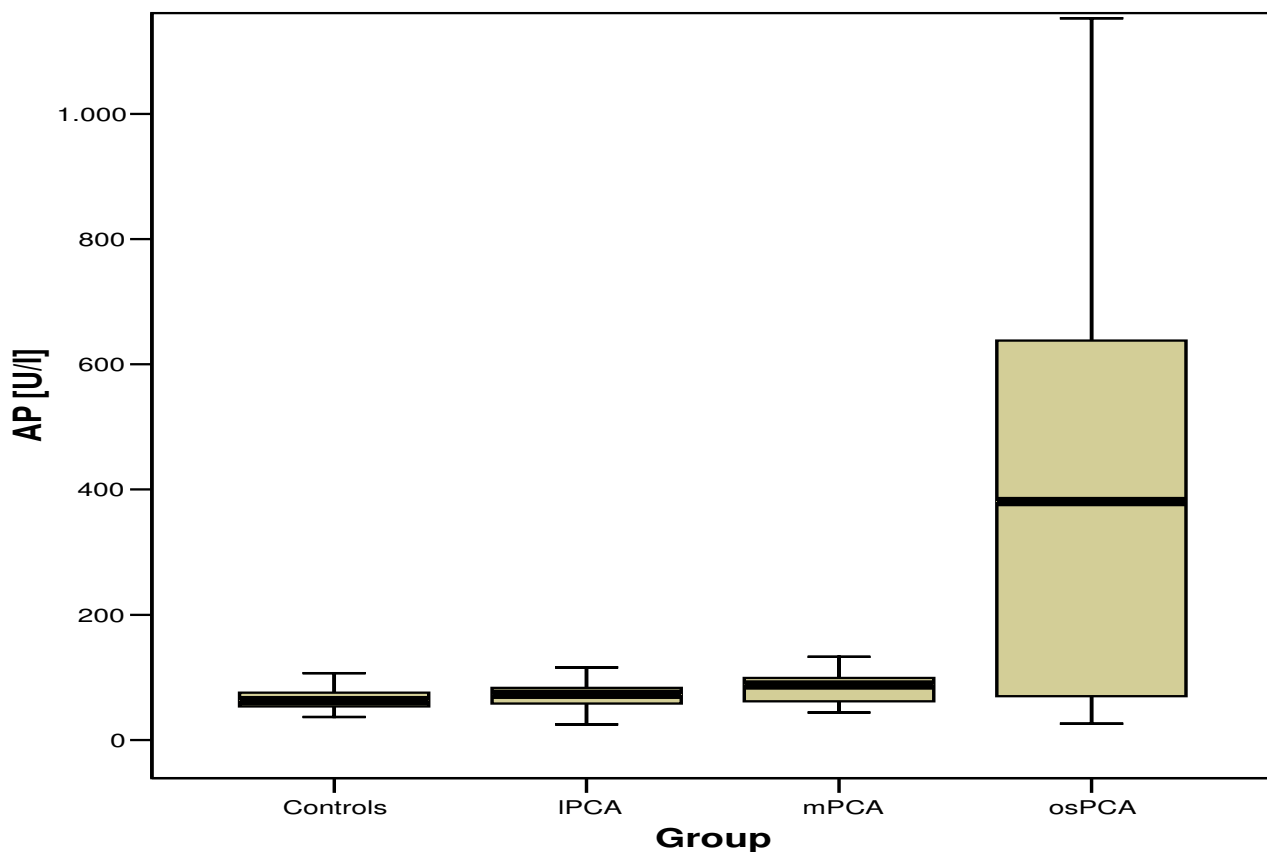


Abbildung 9 : Gemessene AP-Werte in den verschiedenen Gruppen.

3.4. Osteocalcin

Die Werte von OC waren bei osPCA-Patienten signifikant am höchsten, wobei der Median bei 34,5 ng/ml (\pm Standardabweichung, $p < 0,05$) lag. In der Gruppe der Patienten mit radikaler Prostatektomie zeigten sich für OC keine Unterschiede bei histologischem Nachweis einer regionalen Lymphknotenmetastasierung. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 19 ng/ml (\pm Standardabweichung, s. Abb. 10).

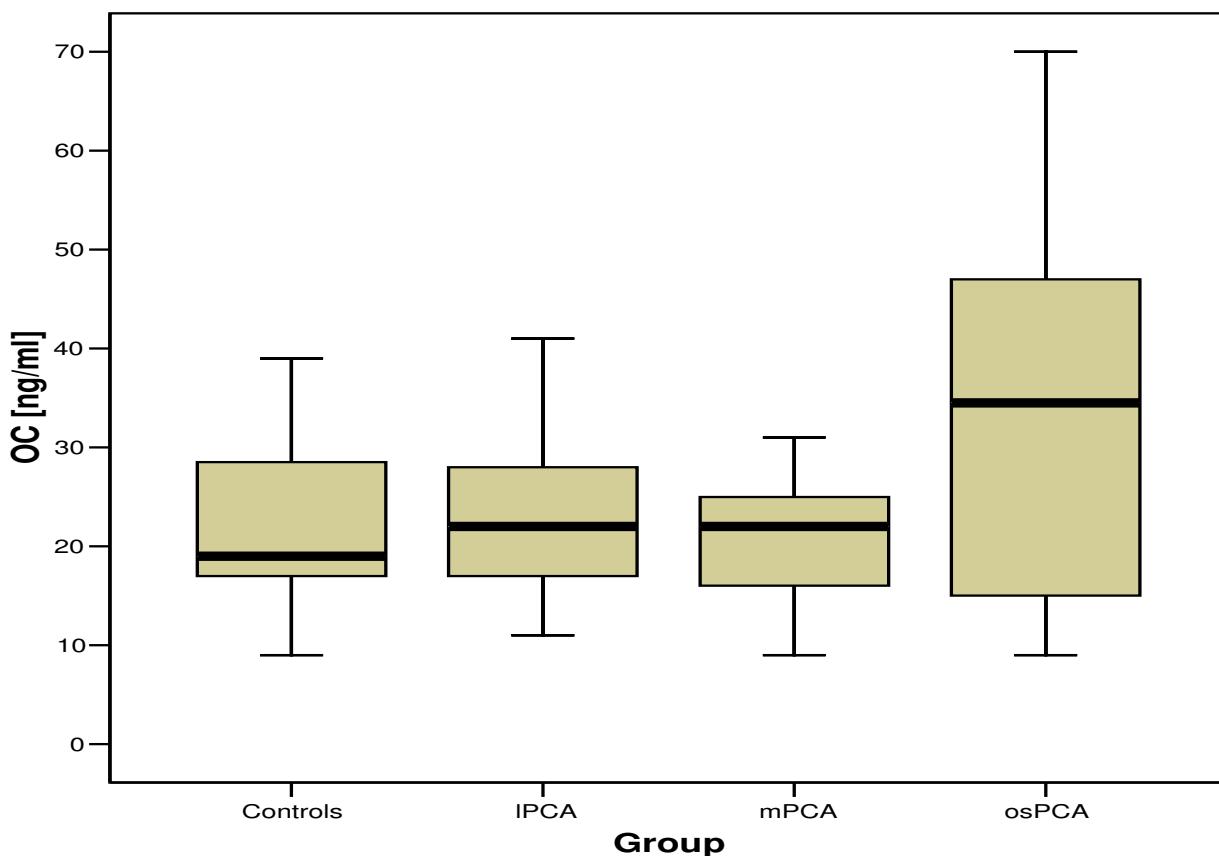


Abbildung 10: Verteilung von Osteocalcin in den untersuchten Patientengruppen.

3.5. Tartrate-resistant Saure Phosphatase Typ 5b

OsPCA-Patienten zeigten die signifikant höchsten Werte für TRACP 5b ($p < 0,001$, s. Abb. 11), bei einem Median von 7,0 ng/ml (\pm Standardabweichung). mPCA-Patienten zeigten ebenfalls signifikant erhöhte TRACP5b-Spiegel (Median 3,65 ng/ml, \pm Standardabweichung). Die Kontrollgruppe zeigte die niedrigsten Werte mit einem Median von 2,65 ng/ml (\pm Standardabweichung).

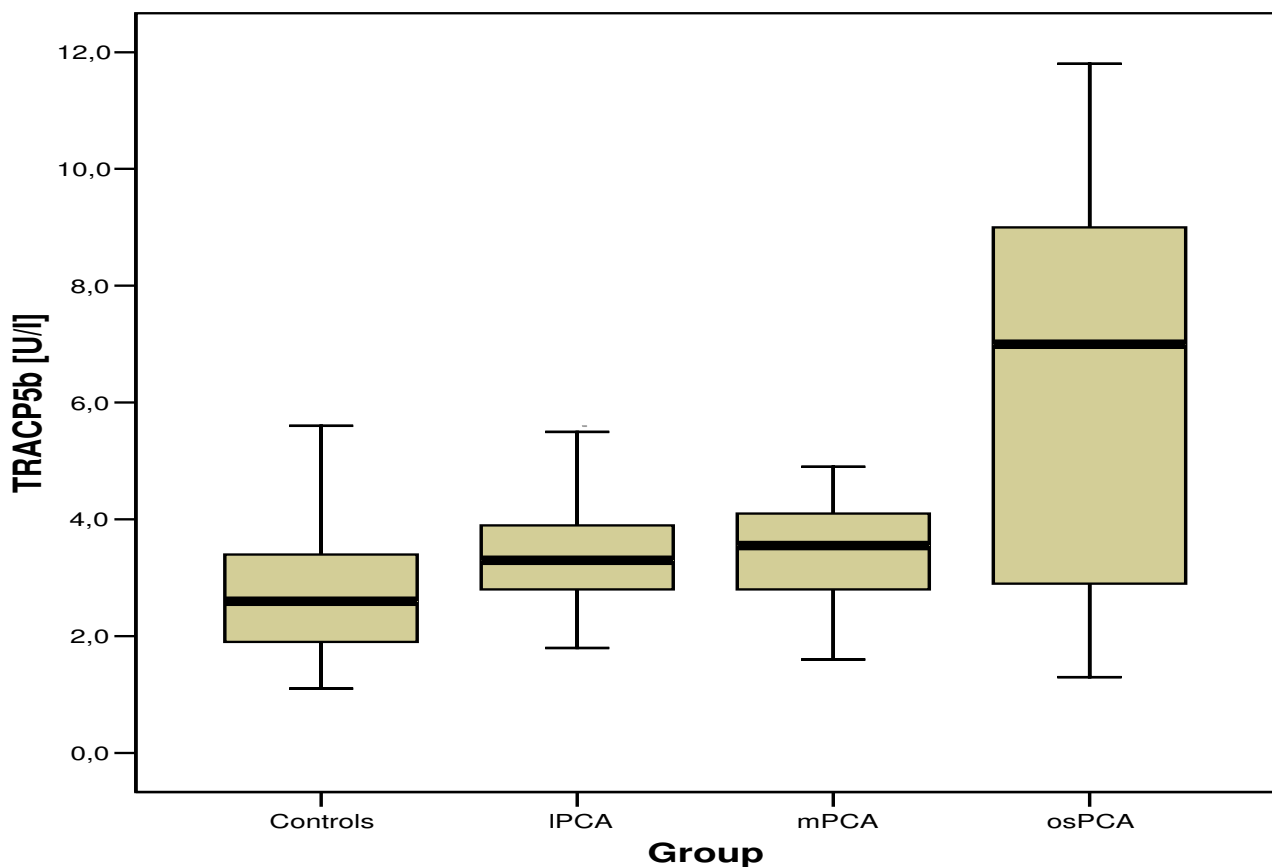


Abbildung 11: Verteilung von TRACP 5b in den untersuchten Patientengruppen.

3.6. Kollagen Typ I Telopeptide

CTX zeigte im Vergleich zu den anderen Knochenstoffwechselfparametern den niedrigsten Anstieg. Es zeigte sich keine signifikante Erhöhung der gemessenen biochemischen Marker, weder bei osPCA noch bei IPCA und mPCA (s. Abb. 12).

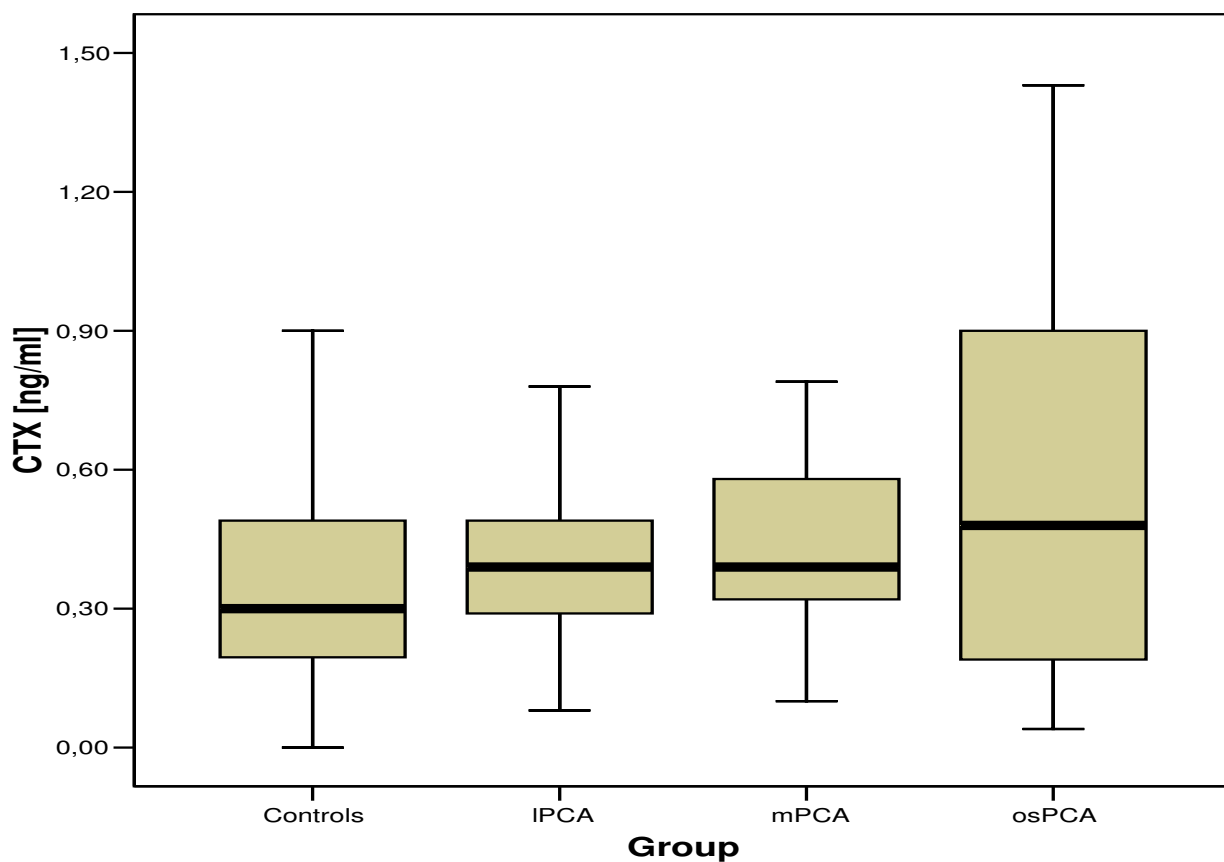


Abbildung 12: Verteilung von CTX in den untersuchten Patientengruppen.

4. Diskussion

Insgesamt 80% der Knochenmetastasen durch Karzinome sind durch das Prostata- oder Mamma-Karzinom bedingt. Bei einer Morbidität von über 100.000 Fällen pro Jahr, ist es deshalb wichtig, Maßnahmen zu ergreifen, um die Inzidenz von Knochenmetastasen, die durch Tumore wie das Prostatakarzinom entstehen, zu senken (Coleman RE 2001). Eine frühzeitige Detektion bzw. die Verhinderung von Knochenmetastasen ist demnach für die Behandlung und Prognose des metastasierten Prostatakarzinoms von großer Bedeutung und stellt für Arzt und Patient eine große Herausforderung dar (de la Piedra et al. 2003, Katakoka et al. 2006).

Momentan werden zur Diagnose ossärer Manifestationen radiologische, nuklearmedizinische und laborchemische Untersuchungsmethoden eingesetzt. Radiologische Untersuchungen können Osteolysen im Röntgenbild jedoch erst ab einer bestimmten Größe erkennen. Die Knochenszintigraphie ist Goldstandard für die Manifestation und die Verlaufskontrolle ossärer Läsionen (O'Sullivan et Cook 2002). Für die klinische Routine stellt diese Untersuchung allerdings ein Problem dar. Empfohlen wird die Durchführung erst bei Patienten mit Knochenschmerzen oder steigenden PSA-Werten. Sie hat bei einer hohen Sensitivität eine recht eingeschränkte Spezifität und erlaubt oft keine Aussage zur Dignität der dargestellten Veränderungen. Laborchemische Untersuchungen dienen der Verlaufsbeobachtung, erlauben oft jedoch keine Aussagen über die Aktivität lokaler Osteolysen (Wymenga et al. 2001, Tamada et al. 2001).

Diese Tatsache hat zu einer Suche nach möglich nicht-invasiven Parametern für die frühzeitige Erfassung von Knochenmetastasen geführt, was vor allem für das Follow-Up bei Risikopatienten wichtig ist. PSA ist aktuell der häufigste und verlässlichste Marker, sowohl im Rahmen der uro-onkologischen Vorsorgeuntersuchung als Prognosewert im Falle eines histologisch gesicherten Prostatakarzinoms, als auch im Rahmen der Nachsorge für die Rezidivwahrscheinlichkeit (American Cancer Society 2002, Gann et al. 1995, Starney et al. 1987). Der Knochen jedoch ist ein dynamisches Gewebe, welches durch zwei charakteristische Aktivitäten gekennzeichnet ist: Resorption und Formation - eine Arbeit von Osteoblasten und Osteoklasten. Im erwachsenen Knochen sind diese beiden Prozesse miteinander

gekoppelt und stehen in einem Gleichgewicht zueinander. Verschiedene pathologische Gegebenheiten führen zu einem Ungleichgewicht.

Biochemische Marker sind aktive Produkte der Osteoblasten und Osteoklasten und werden während der Formations- und Resorptionsphase von dem Knochen abgespalten (Seibel MJ 2000). Die Möglichkeit der Messung neuer biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels hat die diagnostischen Möglichkeiten zur Beurteilung des Knochenstoffwechsels deutlich verbessert und somit neue Wege auch in der Diagnostik von Knochenmetastasen beim Prostatakarzinom eröffnet.

In unserer Studie hatten wir das Ziel, prospektiv die Wertigkeit verschiedener Resorptions- (TRACP5b, CTX) und Formationsmarker (AP, OC) in verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms zu evaluieren und mit den klinischen und histopathologischen Daten abzugleichen.

Unsere Ergebnisse zeigten, dass Patienten mit ossären Filiae aufgrund eines Prostatakarzinoms eine signifikante Erhöhung aller biochemischer Marker (außer für CTX) aufweisen. Die AP zeigte die signifikant höchsten Werte ($p < 0.001$) und stellt somit einen sensitiven Marker für die Knochenresorption dar. Signifikant erhöht waren die Serumwerte auch für OC ($p < 0.05$) und TRACP 5b ($p < 0.001$).

Obwohl die Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms gewöhnlich vom osteoblastischen Typ sind, waren in unserer Arbeit in der osPCA-Gruppe sowohl Knochenaufbau- (AP, OC) als auch Knochenabbauprodukte (TRACP5b) signifikant erhöht. Die von uns erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass in der Entstehung der Knochenmetastasen beim Prostatakarzinom sowohl die osteoblastische als auch die osteoklastische Aktivität eine Rolle spielt, welche mittels der neuen biochemischen Marker problemlos bestimmt werden kann. Verdeutlicht wird dies in unterschiedlichen knochenhistologischen Untersuchungen, die einen gleichzeitigen Knochenabbau sowie -aufbau zeigen (Humphrey PA 2004). Die im Serum und Urin gemessenen Knochenstoffwechselparameter wurden in den letzten Jahren eingehend untersucht und dienen als Indikatoren für Knochenmetastasen, da sie mit der Anzahl der ossären Läsionen durch das Prostatakarzinom korrelieren (Garnero P 2001, Brown et al. 2005).

In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen haben auch Brown et al. (2005) signifikant erhöhte Werte der AP als Prediktor für Skelettmetastasen beschrieben. Bei Jung et al. (2003) waren bei Prostatakarzinom-Patienten die Serumwerte für AP

und TRACP5b signifikant erhöht, während für OC keine vergleichbaren Ergebnisse erzielt werden konnten. In der Arbeit von Tamada et al. (2001) wurden Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom, teilweise unter Hormontherapie stehend, untersucht. Auch hier fand sich eine signifikante Erhöhung der Knochenstoffwechselfparameter in der Gruppe der Patienten mit Knochenmetastasen. CTX und OC zeigten hier zwar signifikant hohe Werte in der Gruppe der Patienten mit Knochenmetastasen, korrelierten allerdings nicht mit den in der Knochenszintigraphie dokumentierten Knochenläsionen.

Die unterschiedlichen Ergebnisse können sowohl auf unterschiedlich verwandte Assays und damit verbundener Techniken als auch auf eine unterschiedliche diagnostische Stabilität der Proben im Serum und Urin nach Abnahme basieren (Jemal et al. 2007). Um eine diagnostische Stabilität nach der Probenentnahme zu erreichen, haben wir Knochenstoffwechselfparameter deshalb ausschließlich im Serum in einem definierten Zeitraum am Morgen bestimmt.

PSA zeigte sich erwartungsgemäß in allen Patientengruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. In der osPCA-Gruppe waren die PSA-Werte signifikant am höchsten. Unsere und andere Ergebnisse demonstrieren, dass die Höhe des PSA-Wertes gut mit einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium korreliert (Stamey et al. 1987). Eine eindeutige Differenzierung zwischen lymphknoten-positiven (mPCA) und lymphknotennegativen (IPCA) Patienten gelingt anhand unserer Daten mithilfe des PSA nicht, gestützt dadurch, dass das PSA bereits in der IPCA-Gruppe signifikant erhöht ist. Das bedeutet, zur frühzeitigen Erkennung von Knochenmetastasen, vor allem im noch lokal beschränkten Stadium, reicht die alleinige Bestimmung des PSA nicht aus. Lediglich stark erhöhte PSA-Werte ($\text{PSA} > 100 \mu\text{g/l}$) machen eine Metastasierung wahrscheinlich (Miller et al. 1992; Lorente et al. 1995). Demnach stellt der PSA-Wert weiterhin einen guten diagnostischen sowie postoperativen Verlaufsmarker dar, da nach radikaler Prostatektomie das gesamte Prostatagewebe entfernt ist und ein erhöhter PSA-Gradient nur durch ein latentes Rezidiv und/oder durch eine Metastasierung bedingt sein kann (Fowler et al. 1995). Dennoch bleibt der PSA-Wert trotz ausreichender Modifizierung für die Diagnostik und Verlaufsbeobachtung des Prostatakarzinoms ein guter statischer Prognosefaktor mit limitierter Spezifität, da besonders dynamische

Knochenumbauvorgänge nicht suffizient beurteilt werden können (Dotan et al. 2005; Kattan et al. 1997).

Im Gegensatz zum PSA lässt in unserer Studie die Höhe der AP bereits in einem früheren Stadium viel eher einen Zusammenhang mit einem metastasierten Prostatakarzinom erkennen. Die AP zeigte sich bei lymphknotenpositiven Patienten (mPCA) im Vergleich zu lymphknotennegativen Patienten (IPCA) signifikant erhöht, wohingegen in der IPCA-Gruppe kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe beobachtet werden konnte. Trotz negativem Knochenszintigramm sahen wir bei diesen Patienten eine Erhöhung der AP als Ausdruck eines eventuell pathologisch erhöhten Knochenmetabolismus.

Die AP ist der am häufigsten verwendete Marker in der Diagnose ossärer Metastasen. Zu dieser Gruppe gehören das intestinale, das plazentare, das gewebeunspezifische und das Keimzellisoenzym. Aus dem gewebeunspezifischen Enzym entstehen nach posttranslatorischer Modifikation weitere Isoformen (Leber-AP, Knochen-AP und Nieren-AP). Insgesamt sind über 15 Isoformen der AP beschrieben worden. Sie unterscheiden sich allein in der Sialidierung der Kohlenhydratseitenketten des jeweiligen Isoenzym (Millan et al. 1995; Wallace et al. 1996).

Aufgrund der bestehenden Isoenzyme kann die Erhöhung der Gesamt-AP auch andere Ursachen haben. Hohe pathologische Werte lassen sich hauptsächlich bei Erkrankungen von Leber und Skelett beobachten, z.B. bei primären Erkrankungen der Leber und Gallenwege, primären und sekundären Erkrankungen des Skelettsystems oder neoplastischer Neubildung der AP im Tumorgewebe (Langlois et al. 1994). Obwohl viele andere Studien die knochenspezifische Phosphatase der Gesamt-AP vorzogen (Fohr et al. 2003; Jung et al. 2003), haben wir uns am Anfang der Studie dazu entschlossen, die Gesamt-AP zu bestimmen.

Um eine Kreuzreaktivität mit anderen Isoenzymen der AP, speziell dem Leberisoenzym, zu vermeiden, schlossen wir bei allen Patienten vor Studienbeginn konsumierende Erkrankungen von Leber, Niere und Knochen aus. Um zusätzlich den Einfluss einer medikamentösen Therapie wie z.B. Bisphosphonate oder andere den Knochen beeinflussende Medikamente auszuschalten, haben wir nur unbehandelte Patienten mit in die Studie eingeschlossen.

Die Knochen-AP ist an der Plasmamembran der Osteoblasten lokalisiert und wird als direktes Produkt der Osteoblasten während des Prozesses der Mineralisation in den

Kreislauf freigesetzt (de la Piedra et al. 2003). Eine erhöhte Osteoblastenaktivität führt zum Anstieg des Enzyms. Die Elimination erfolgt über das Retikuloendotheliale System (RES). Die genaue Funktion der Knochen-AP ist noch unklar (Harris H 1989). Verschiedene Autoren weisen ihr eine entscheidende Rolle im Mineralisationsprozess zu. Man nimmt an, dass sie die lokale Konzentration von anorganischem Phosphat erhöht, lokale Inhibitoren der Mineralkristallbildung inhibiert oder als Calcium-bindendes Protein fungiert (Lothar T 2005).

Das Phänomen der Kreuzreaktivität der Knochen-AP mit dem Leberisoenzym zeigte sich in der Studie von de la Piedra et al. (2003), in der Patienten mit Prostatakarzinom und Lebererkrankungen, inklusive Lebermetastasen eingeschlossen waren. AP hatte in dieser Studie in der Detektion der Knochenmetastasen im Vergleich zu den anderen Parametern eine niedrigere Sensitivität. Auch Koizumi et al. (2001) fanden signifikant hohe Werte für die AP bei Prostatakarzinom-Patienten mit Knochenmetastasen, dennoch korrelierte Prokollagen Typ I Propeptid (PINP) besser als die Knochen-AP mit dem Ausmaß der Erkrankung. In der Studie von Garnero et al. (2000) an Patienten mit Prostatakarzinom zeigte sich für die AP eine signifikante Erhöhung in der Gruppe der Patienten mit Knochenmetastasen, sowie ein deutlicher Rückgang des Serumwertes unter Bisphosphonattherapie.

Trotz unterschiedlicher Aussagen in der Literatur, zeigen unsere Ergebnisse, dass unter Berücksichtigung oben genannter Faktoren, die AP sehr spezifisch und mit großer Sensitivität die Aktivität der Osteoblasten am Knochen nachweist und im Hinblick auf die rechtzeitige Detektion von Knochenmetastasen bei Patienten mit Prostatakarzinom sogar vor initialer Therapie als sensibler Marker eingesetzt werden kann und dazu beitragen kann, dass Patienten eine frühzeitige gezielte Therapie erhalten. Ob diese erhöhten AP-Werte bei den Patienten mit Lymphknotenmetastasen bereits ein Zeichen für eine stattgehabte, aber bildmorphologisch nicht nachweisbare ossäre Metastasierung sein könnten, muss eine Langzeitbeobachtung dieser Patienten klären.

OC zeigte in der Gruppe der Patienten mit ossär metastasierten Patienten einen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikanten Serumanstieg. Als Formationsmarker zeigt

OC ein der AP ähnliches Verhalten und weist gut die Osteoblastentätigkeit am Knochen nach.

In der Gruppe der Patienten mit radikaler Prostatektomie zeigten sich für OC keine Unterschiede bezüglich der Lymphknotenmetastasierung. In beiden Gruppen (IPCA, mPCA) erhielten wir gleiche Ergebnisse. Hier scheint OC der AP unterlegen zu sein. Dieses Ergebnis passt nicht in das von uns beschriebene Erklärungsmodell.

Tamada et al (2001) kommen in ihrer Studie auf ähnliche Ergebnisse für OC. Auch Garnero et al (2000) und Koizumi et al (2001) fanden in ihren Arbeiten heraus, dass alle untersuchten Parameter, außer OC, einen signifikanten Unterschied bei Patienten mit metastasiertem PCA und bei nicht metastasierten Patienten deutlich machen konnten. Garnero erklärten sich die niedrigere Sensitivität des OC durch die Pathophysiologie der Metabolisierung des Moleküls.

OC wird, wie im Kapitel Einleitung bereits beschrieben, beim Menschen durch ein Gen auf dem Chromosom 1q25-q31 codiert und im Knochen durch die Osteoblasten und im Zahn durch Odontoblasten gebildet (de Broe et Moss 1992). Dies wird durch $1,25(\text{OH})\text{VitD}_3$ induziert. Ein kleiner Anteil wird von Megakaryozyten und Thrombozyten gebildet. Während der Matrix-Mineralisierungsphase wird OC von den Osteoklasten aktiv gebildet und zum größten Teil in die organische Matrix eingebaut. Der geringe Anteil, der in die Zirkulation gelangt (ungefähr 10-40%), kann im Serum bestimmt werden und wird dort rasch durch Metallproteasen von Leber und Niere proteolytisch abgebaut (Lothar T 2005). Ein erniedrigter Serumwert kann durch die verschiedenen Stadien des Mineralisationsprozesses des OC verursacht sein, was an Untersuchungen an Morbus Paget-Patienten verdeutlicht werden konnte (Coulton et al. 1988). OC zeigte dort im Vergleich zur AP eine verminderte Ansprechbarkeit. Eine verminderte renale Clearance lässt die Werte von OC im Serum drastisch steigen. Eine orale Antikoagulantientherapie mit Phenprocoumon kann zu einer Erniedrigung der Serum-OC-Werte führen, da sich OC im Prothrombinkomplex und in anderen Vitamin K-abhängigen Faktoren finden lässt. Glukokortikoide führen zu einem gesteigerten Knochenabbau und hemmen zusätzlich die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -stimulierte OC-Synthese (Lothar T 2005). Als Folge kommt es unter Glukokortikoidtherapie, abhängig von der applizierten Dosis, zu einem Abfall der OC- und CTX-Konzentration (Duda et al. 1988).

Eine Erklärung für die fehlenden Signifikanz könnte somit die unterschiedliche Stadien des Mineralisationsprozesses sein oder andere, den Patienten betreffenden

Begleiterkrankungen (und daraus resultierende Medikamententherapie), die mit einem erniedrigten OC-Wert im Serum einhergehen.

TRACP5b, als Resorptionsmarker, zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe in der Gruppe der Patienten mit ossär metastasiertem Prostatakarzinom die höchsten Werte.

Dieses Ergebnis unterstreicht unsere oben aufgeführte und in der Literatur bereits oft beobachtete These, dass in der Entwicklung der Knochenmetastasen beim Prostatakarzinom, sowohl osteoblastische als auch osteoklastische Prozesse eine Rolle spielen. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass sich unter erfolgreicher Behandlung osteolytischer Knochenmetastasen mit Bisphosphonaten ein Abfall des TRACP5b-Wertes als Ausdruck einer Suppression der Osteoklastentätigkeit zeigte (Lau et al. 1997). In der Studie von Lyumibova et al. (2004), in der Patienten mit Prostata- und Mamma-Karzinom untersucht wurden, zeigten sich ähnliche Ergebnisse. Frauen, die eine Bisphosphonattherapie erhielten, hatten im Vergleich zu den Frauen ohne Therapie deutlich erniedrigte Werte. Zudem waren die Serumwerte für TRACP5b bei Patienten/-innen mit Knochenmetastasen wesentlich höher als bei Gesunden oder Patienten ohne Knochenmetastasen. Die Serumaktivität von TRACP5b war bei Patienten mit multiplen Metastasen höher als bei jenen mit einzelnen Knochenmetastasen.

Auch wir fanden signifikant erhöhte Werte in der Gruppe der Patienten mit Knochenmetastasen; die mPCA-Gruppe zeigte im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls signifikant höhere Werte als die Patienten ohne Lymphknotenmetastasen (IPCA). Ein Beweis dafür, dass TRACP5b zum einen gut mit dem Krankheitsprogress korreliert und andererseits gut als Therapiemarker unter Bisphosphonattherapie eingesetzt werden kann.

Den Einfluss der medikamentösen Behandlung auf den Knochenstoffwechsel zeigte auch Jung et al. 2004 in seiner Arbeit. Patienten unter Androgendeprivation mit lymphknotenpositivem PCA konnten erhöhte Werte für TRACP und CTX verzeichnen. Als Ausdruck eines erhöhten Knochenmetabolismus und damit verbundener fortgeschrittener Osteoporose zeigten Patienten unter Androgendeprivation nicht nur erhöhte TRACP5b und CTX-Werte, sondern bargen ein erhöhtes Risiko der Frakturgefahr (Hoang et al. 2003). Knochenfrakturen gehen mit Schmerzen einher und können zur Einschränkung der Lebensqualität führen. Wie wichtig das ist, konnte ein Teil unserer Autorengruppe unter Hegele et al in einer

vorangegangenen Studie demonstrieren. Ossär metastasierte hormonrefraktäre Patienten unter Kombinationstherapie mit Docetaxel/Zoledronsäure zeigten, dass eine Abnahme der Knochenresorptions-Parameter (TRACP5 und alpha-CTX) mit einer Schmerzreduktion und folglich mit einer Steigerung der Lebensqualität korrelierte. Unter alleinigem PSA-Abfall gaben nicht alle Patienten eine Symptombesserung an (Hegele A et al. 2006).

In-vivo (Tiermodell) und *in-vitro* (Zellkulturen) zeigte Zoledronsäure inhibitorische Effekte sowohl auf osteoblastische als auch auf osteolytische Metastasen des Prostatakarzinoms. Zusätzlich wurden apoptoseähnliche und antineoplastische Effekte beschrieben (Miller et al. 2006).

Bemerkenswert ist, dass trotz negativem Knochenszintigramm, Patienten mit Lymphknotenmetastasen bei klinisch lokalisiertem Prostatakarzinom einen erhöhten Knochenstoffwechsel aufzeigen, der anhand Erhöhung der TRACP5b-Konzentration im Serum gemessen werden kann. Inwieweit diese erhöhten individuellen Spiegel bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen darauf hinweisen, dass bereits durch das konventionelle Knochenszintigramm nicht fassbare Knochenmetastasen vorliegen, bleibt weiteren folgenden Untersuchungen vorbehalten. Der weitere Verlauf muss klären, ob diese Patienten zukünftig ein höheres Risiko haben Knochenmetastasen zu entwickeln.

Physiologisch erhöhte Konzentrationen von TRACP5b finden sich während des Wachstums bei Kindern und Jugendlichen (Chen et al. 1979). Der Abbau des Enzyms erfolgt nach Inaktivierung in der Leber, so dass keine Interferenz durch eine verminderte renale Clearance besteht (Lyubimova et al. 2004). Die Serumkonzentration von TRACP 5B zeigt eine geringe Tagesrhythmik, was bei der Abnahme berücksichtigt wurde (Lothar T 2005).

Für CTX sahen wir in keiner Gruppe signifikant höhere Serumwerte. Die Gruppe der Patienten mit Knochenmetastasen bot dennoch, auch wenn nicht signifikant, erhöhte Werte. In dieser Gruppe zeigte CTX trotz negativem Knochenszintigramm einen erhöhten Knochenumbau an. In der Gruppe der Patienten mit radikaler Prostatektomie gab es bezüglich der Lymphknotenmetastasierung keine Unterschiede. Eine Erklärung für die fehlende Signifikanz der CTX-Werte in unserer

Arbeit kann die Tatsache sein, dass wir CTX ausschließlich im Serum untersucht haben.

Die CTX-Konzentrationen im Serum unterliegen tageszeitlichen Schwankungen. Erhöhte Werte sind nachts zu messen, weshalb die Blutabnahme vor allem morgens und nüchtern erfolgen sollte. Für die Konzentrationsbestimmung im Urin sollte der erste Morgenurin genommen werden (Mora et al. 1999). In der Studie von de la Piedra et al. (2003) konnte durch die Serumbestimmung des CTX-Wertes bei Prostatakarzinom-Patienten zwischen nicht-metastasierten und metastasierten Patienten unterschieden werden. Dabei erreichte die Sensitivität und Spezifität von CTX 100%. Im Jahr davor untersuchten de la Piedra et al CTX im Urin und im Serum von Patienten mit Knochenmetastasen durch ein Prostatakarzinom und erhielten signifikante Werte. Unter antiresorptiver Therapie sank der CTX-Wert sowohl im Serum als auch im Urin.

Ein Teil unserer Autorengruppe untersuchte 2008 im Anschluss an die von uns vorgestellte Studie an ähnlichem Patientenprofil alpha-CTX im Morgenurin. Es zeigten sich hochsignifikante Werte für alpha-CTX bei Patienten mit ossären Knochenmetastasen. Patienten mit Lymphknotenmetastasen boten im Vergleich zu denen ohne Metastasierung ebenfalls signifikante Werte (Hegele et al. 2008).

High risk Gruppe (N+)

In der Gruppe der Patienten mit Lymphknotenmetastasen (mPCA) zeigten sich die Werte für TRACP5b ($p < 0,005$) und AP ($p < 0,05$) im Vergleich zu denen für CTX und OC signifikant erhöht. Außerdem zeigte diese Gruppe signifikant erhöhte präoperative PSA-Werte im Vergleich zur Gruppe der Patienten ohne Lymphknotenmetastasierung ($p < 0,001$). Die Kontrollgruppe zeigte die niedrigsten Werte der bestimmten Knochenstoffwechselfparameter.

Wir zeigen die erste prospektive Studie, die signifikant erhöhte Werte für Knochenformations- sowie Resorptionsmarker bei Patienten im initialen Stadium mit lymphknotenpositiven Prostatakarzinom zeigt. Bei diesen Patienten zeigte sich die präoperative Knochenszintigraphie negativ. Nicht unerwartet waren in dieser Gruppe die PSA-Werte im Vergleich zur Gruppe der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen präoperativ höher, uns demonstrierend, dass PSA einen prädiktiven Marker für eine bereits fortgeschrittene Erkrankung darstellt. Genau diese Patientengruppe, die einen positiven Lymphknotenbefall nach radikaler

retropubischer Prostatektomie haben, repräsentiert eine High Risk Gruppe für einen späteren Krankheitsprogress und die Entwicklung von Knochenmetastasen (Amo et al. 1997). Umso erstaunlicher ist es, dass diese Patienten bereits bei der Operation erhöhte Knochenstoffwechselfparameter aufzeigen (TRACP 5b und AP) trotz negativem Knochenszintigramm.

Eine frühzeitige adjuvante Hormontherapie in der Therapie des lokal metastasierten Prostatakarzinoms wird von vielen Studiengruppen empfohlen und zeigt ein längeres Überleben der Betroffenen (Scutellari et al. 2000; Schrijvers et al. 2007).

Knochenstoffwechselfparameter könnten hilfreiche Mittel zur Detektion von Knochenmetastasen darstellen und somit die adäquate und frühzeitige Therapie dieser Patienten ermöglichen.

Eine longitudinale Studie mit der Beobachtung dieser Patienten soll beantworten, ob und wann Patienten mit Lymphknotenmetastasen und erhöhtem TRACP5b und AP Knochenmetastasen entwickeln werden. In diesem Zusammenhang könnte möglicherweise durch adjuvante Gabe von Bisphosphonaten eine osteoblastische und osteoklastische Aktivität inhibiert werden und somit die Manifestation össärer Metastasen verzögert oder sogar verhindert werden.

Beeindruckend ist, dass auch die Gruppe der Patienten ohne Lymphknotenbefall bereits signifikant erhöhte TRACP5b-Serumwerte ($p < 0.001$) aufwiesen, als Zeichen für eine erhöhte Knochenresorption. Ähnlich zur Gruppe der Patienten mit Lymphknotenbefall soll eine longitudinale Studie die therapeutische Wertigkeit und die daraus resultierenden Konsequenzen klären.

Die von uns erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass in der Entstehung der Knochenmetastasen beim Prostatakarzinom sowohl eine osteoblastische als auch eine osteoklastische Aktivität eine Rolle spielt, die mittels Biomarker nachgewiesen werden kann. Knochenstoffwechselfparameter könnten in Zukunft hilfreiche Mittel zur Detektion Knochenmetastasen darstellen und somit eine adäquate und frühzeitige Therapie des Prostatakarzinoms ermöglichen. Inwieweit diese erhöhten Werte des Knochenstoffwechsels bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen aufgrund eines Prostatakarzinoms bereits auf eine Knochenmetastasierung, welche bildmorphologisch noch nicht fassbar ist, hinweisen, wird der weitere Krankheitsverlauf zeigen müssen. Sollte dies jedoch der Fall sein, ist die Frage der „adjuvanten“ Therapie dieser Patienten mit einem Bisphosphonat ebenso wie die

Menge/Frequenz der Applikation zu diskutieren und anhand von prospektiven Studien mit einer repräsentativen Fallzahl zu klären.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer prospektiven Studie die Wertigkeit von vier Knochenstoffwechselmarkern in verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms evaluiert.

Von den vier ausgewählten Markern beschreiben jeweils zwei (Alkalische Phosphatase (AP) und Osteocalcin (OC)) die anabole und zwei (Tartrate-resistente Saure Phosphatase Typ 5b (TRACP5b) und Kollagen Typ I Telopeptide (CTX)) die katabole Aktivität des Knochenumbaus.

Bis auf CTX zeigten die von uns evaluierten Parameter eine signifikante Erhöhung des Serumwertes bei Patienten mit nachgewiesenen ossären Metastasen. Dabei boten AP und TRACP5b die signifikant höchsten Werte, gefolgt von OC. Obwohl die Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms gewöhnlich vom osteoblastischen Typ sind, zeigen unsere Daten, dass in der Entstehung der Knochenmetastasen bei Prostatakarzinompatienten, sowohl osteoblastische als auch osteoklastische Prozesse stattfinden. Es konnten erstmals signifikant erhöhte Werte für Knochenformations- sowie Resorptionsmarker bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden.

Patienten nach radikaler retropubischer Prostatektomie mit histopathologisch nachgewiesenem positiven Lymphknotenbefall sind High-Risk-Patienten (pT3, Gleason>8, N+) und haben eine hohe Rezidiv- und/oder Metastasierungswahrscheinlichkeit. Erstaunlich ist es, dass diese Patienten bereits bei der Operation bei klinisch lokalisiertem Prostatakarzinom und unauffälligem Knochenszintigramm als Ausdruck eines erhöhten Knochenmetabolismus erhöhte Serumwerte aufzeigten. Trotz negativem Knochenszintigramm erhielten wir signifikant erhöhte Werte für TRACP5b ($p<0,005$) und AP ($p<0,05$), welches einen erhöhten Knochenumbau anzeigt. Mittels der AP gelang uns eine klare Differenzierung zwischen lymphknotenpositiven und lymphknotennegativen Patienten. Nicht unerwartet waren die PSA-Werte bei diesen Patienten im Vergleich zu denen ohne Lymphknotenmetastasen präoperativ höher, was demonstrierend, dass PSA einen prädiktiven Marker für eine bereits fortgeschrittene Erkrankung darstellt ($p<0.001$).

Eine longitudinale Studie mit der Beobachtung dieser Patienten muss die Frage beantworten, ob und wann Patienten mit Lymphknotenmetastasen und erhöhtem TRACP5b und AP Knochenmetastasen entwickeln werden. In diesem

Zusammenhang könnte möglicherweise durch adjuvante Gabe von Bisphosphonaten eine osteoblastische und osteoklastische Aktivität inhibiert werden und somit die Manifestation össärer Metastasen verzögert oder sogar verhindert werden. Beeindruckend ist, dass auch die Gruppe der Patienten ohne Lymphknotenbefall signifikant erhöhte TRACP5b-Serumwerte ($p < 0.001$) aufwiesen, als Zeichen für eine erhöhte Knochenresorption. Ähnlich zur Gruppe der Patienten mit Lymphknotenbefall muss eine longitudinale Studie die therapeutische Wertigkeit und die daraus resultierenden Konsequenzen klären.

Mit dieser Studie zeigen wir, dass Knochenstoffwechselfparameter bei Patienten mit ossär metastasiertem Prostatakarzinom verlässliche Marker darstellen und sich eventuell in der Hochrisikogruppe (pT3, N+, Glesason > 8) nach radikaler retropubischer Prostatektomie in der frühzeitigen Detektion von Knochenmetastasen als hilfreich erweisen können.

6. Summary

The subject of this MD thesis was the prospective analysis of the relevance of four different serum markers of bone turnover in different stages of prostate cancer in the assessment of bone metastases. Alkaline phosphatase (ALP) and Osteocalcin (OC) represent bone formation and Tartrate-resistant acid phosphatase type 5b (TRACP5b) and Serum-C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX) represent bone resorption.

This study included 219 men, 129 undergoing radical retropubic prostatectomy (RRP), 25 with bone metastases due to prostate cancer, and 65 with benign urological disorders who served as controls. Men undergoing RRP were divided in lymph node negative and lymph node positive groups.

It was shown that, apart from CTX, all markers (ALP, TRACP5b and OC) were significantly increased in serum blood samples from patients with bone metastases, with ALP and TRACP5b having the highest values. The controls had the lowest marker levels. Patients with lymph node positive cancer had significantly high serum levels of TRACP5b and ALP, but not for OC and CTX.

So far it is known that bone metastases are of the osteoblastic type. Our data suggest that both osteoblastic and osteoclastic processes are actually involved in the development of bone metastases. For the first time ever we were able to show significantly increased values for both bone formation and bone resorption markers in patients with lymph node metastases.

Lymph node positive patients with radical retropubic prostatectomy are high risk patients (pT3, Gleason >8, N+) and hence have a high risk of progression or developing metastases. Surprisingly, patients with localized stage prostate cancer and a clean scintigram of the bones already show increased serum TRACP5b ($p < 0,005$) and serum ALP ($p < 0,05$). With the help of ALP it was possible to clearly differ between lymph node positive and lymph node negative patients. As one might expect, the pre-operative PSA values were much higher with these patients as with lymph node negative patients. This finding underlines the value of PSA as a predictive marker for advanced prostate cancer.

A longitudinal study of the patients should answer the question if and when lymph node negative patients with increased serum TRACP5b and ALP are developing bone metastases. In this setting adjuvant bisphosphonates might inhibit osteoblastic

and osteoclastic activity and hence delay or even prevent manifestation of bone metastases. Unexpectedly, serum TRACP5b was also significantly increased in lymph node negative patients. The clinical relevance of this finding and a possible therapeutic option can also be investigated with a longitudinal study.

This study shows that markers of bone turnover are reliable markers for patients with bone metastases and also are promising markers for early detection of bone metastases, maybe earlier than conventional radiological methods.

7. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** **Jemal A**, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics 2007, CA Cancer J Clin 2007; 57; 43-66.
- Abbildung 2:** **Roodman D.:** Bone Metastasis. N Engl J Med. 2004; 350: 1655.
- Abbildung 3:** **Mundy GR.** Metastasis to Bone: Causes,Consequences and Therapeutic Opportunities. Nature Reviews Cancer 2, (August 2002) 584-593
- Abbildung 4:** **Hoang, Q.Q.**, Sicheri F., Howard A.I. et al. Bone recognition mechanism of porcine osteocalcin from crystal structure. Nature 2003. 425: 977-980.
- Abbildung 5:** **IDS** (Immunodiagnostics Systems Holdings PLC, Großbritannien)
- Abbildung 6:** **Seibel MJ.** Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. Osteoporos Int. 2000. 11 (Suppl. 6): p.18-29.
- Abbildung 7:** Serummesswerte in allen 4 Gruppen
- Abbildung 8:** Der präoperative PSA-Wert im Vergleich.
- Abbildung 9:** Verteilung der AP in den untersuchten Patientengruppen.
- Abbildung 10:** Verteilung von Osteocalcin in den untersuchten Patientengruppen.
- Abbildung 11:** Verteilung von TRACP5b in den untersuchten Patientengruppen.
- Abbildung 12:** Verteilung von CTX in den untersuchten Patientengruppen.

8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AP	Alkalische Phosphatase
bALP	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (engl. bone specific alkaline phosphatase)
BM	Knochenmetastasen (engl. bone metastases)
BPH	benigne Prostatahyperplasie
CA	Carcinom
CT	Computertomographie
CTX	Carboxyterminale Enden von Kollagen Typ I
DRU	Digital-rektale Untersuchung
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
Gy	Gray
HDR	high-dose-rate
HRPCA	Hormonrefraktäres Prostatakarzinom
LDR	low-dose-rate
MHz	Megahertz
ml	milliliter
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
NaOH	Natriumhydroxid
ng	nanogramm
OC	Osteocalcin
Os-PCA	ossär metastasiertes Prostatakarzinom
PCA	Prostatakarzinom
PINP	Prokollagen Typ I-Propeptid
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PTHrP	Parathormon-ähnliches Peptid (engl. parathyroid hormone related peptide)
RRP	Radikale retropubische Prostatovesikulektomie
SD	Standardabweichung (engl. standard deviation)
TRACP 5b	Tartrate-resistant acid Phosphatase type 5b

TNM	Tumor Lymphknoten Metastasen (engl. Tumor Node Metastases)
TRUS	Transrektaler Ultraschall
UICC	International Union Against Cancer
WHO	World Health Organisation

9. Literaturliste

- Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland (2002): *Krebs in Deutschland*. 3. erweiterte, aktualisierte Ausgabe, Saarbrücken.
- Albertsen PC, Fryback DC, Storer BE et al.: *The impact of co-morbidity on life expectancy on men with localized prostate cancer*. J Urol 1996 ;156:127-132
- Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF et al.: *Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at a diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer*. JAMA 1998; 280:975-980
- Altwein J.E., Mohandessi B: *Prostata- und Samenblasentumoren*, in: *Praxis der Urologie Band 2*, Thieme , 2003. p.174-224.
- Altwein JE, Rübben H (1991): *Urologie*. 3. Ausgabe, Stuttgart, Enke Verlag, Seite 231.
- American Cancer Society, *Cancer Facts and Figures, 2002*, , Atlanta (2002)
- D'Amico AV, Manola J, Loffredo M, Renshaw AA, DellaCroce A, Kantoff P. *6-Month androgen suppression plus radiation therapy vs radiation therapy alone for patients with clinically localized prostate cancer a randomized controlled trial*. JAMA. 2004; 292:821-827
- Amo FH, Verdu Tartajo F, Diez Cordero JM, Lledo Garcia E, Bueno C homon G, Leal Hernandez F.: *Reliability of CT for determining lymphatic involvement in patients with prostate cancer*. Arch Esp Urol. 1994;50(5):464-468.
- Anscher MS, Robertson CN, Prosnitz LR: *Adjuvant radiotherapy for pathologic stage T3/4 adenocarcinoma of the prostate: tenyear update*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995; 33: 37–43.
- Boccon-Gibod L. *Monitoring and treating the patient after radical treatment of localized prostate cancer*. Eur Urol 1994; 20:p. 154-9.
- Boyde, A., Macconachei, E., Reid S.A., et al., *Scanning electron microscopy in bone pathology: review of methods, potential and applications*. Scan. Electron Microsc. 1986. 4:p.1537-1554.
- Breslow N et al.: *Latent carcinoma of prostate at autopsy in seven areas. The International Agency for Research on Cancer, Lyons, France*. Int J Cancer, 1977. 20(5): p. 680-8.
- Brown JE, Cook RJ, Major P, Lipton A, Saad F, Smith M, Lee KA, Hei YJ, Coleman RE. *Bone turnover markers as predictors of skeletal complications in prostate cancer, lung cancer and other solid tumors*. J Natl Cancer Inst 2005; 97:59-69.

- Broyles DL, Nielsen RG, Bussett EM, et al. *Analytical and clinical performance characteristics of Tandem MP Ostase , a new immunoassay for serum bone alkaline Phosphatase*. Clin Chem 1998;44(10);2139-2147
- Börgermann C, Rübber H.: *Früherkennung des Prostatakarzinoms*. Dtsch. Arzteblatt, 2006. 103(37): p. 2399-2406.
- Baade PD, Coory MD, Aitken JF,. *International trends in prostate-cancer mortality: the decrease is continuing and spreading*. Cancer Causes Control 2004;15:237-241
- Calvo M.S., Eyre D.R., Grundberg C.M. *Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover*. Endocr Rev 1996;17:333-338
- Candas B, Cusan L, Gomez JL et al; *Evaluation of Prostatic Specific Antigen and Digital Rectal Examination as Screening Tests for Prostate Cancer*;The Prostate, 2000. 45:p. 19-35.
- Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. *Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer*. N Engl J Med,1991. 324: 1156–1161.
- Catalona, W.J., Flanigan, R.C., Walsh P., *Use of the percentage of free- prostate-specific-antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease*. JAMA 1998. Vol 279. No 19.
- Coleman R.E. *Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies*. Canc treatm. Rev, 2001. 27:p.165-176.
- Coleman RE. *Skeletal complications of malignancy*. Cancer, 1997. 80(Suppl 8):p.1588-94.
- Coulton Les A, Preston ChJ, Couch M, Kanis JA. *An evaluation of serum osteocalcin in Paget`s disease of bone and its response to disphosphonate treatment*. Arthritis Rheum, 1988. 31:1142-7.
- de Broe ME, Moss DW. *Recent development in alkaline phosphatases research*. Clin Chem. 1992. 38:p. 2485 ff.
- De la Piedra C, Castro-Errecaborde NA, Traba ML, et al., *Bone remodeling markers in the detection of bone metastases in prostate cancer*. Clin Chem, 2003. 331:p. 45-53
- Djavan B, Margreiter M (2007): *Biopsy standards for detection of prostate cancer*. World J Urol. 25(1):11-17.
- Djavan B, Zlotta A, Remzi M, et al., *Optimal predictors of prostate cancer on repeat prostate biopsy: A prospective Study of 1051 men*; 2000. J Urol 163(4):p. 1144-1148.
- Dotan ZA, Bainco FJ, Scardino PT et al. *Predicting the time to metastatic progression from biochemical recurrence after radical prostatectomy*. J Urol, 2005. 173 (Suppl. 4): p.309 ff.

- Duda RJ, O'Brian JF, Katzman JA, Peterson JM, et al., *Concurrent assays of circulating bone GLA-protein and bone alkaline phosphatase: effect on sex, age and metabolic bone disease*. J Clin Endocrinol Metab 1988.; 66: p. 951-7.
- Duvy P, Desbois C, Boycem B, et al. *Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice*. Nature 1996 ;382 :448-52.
- Epstein IJ, Partin AW, Sauvageot J, et al. *Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long term follow-up*. Am J Surg Pathol 1996;20:283-292
- Fair WR., Fleshner NE., Heston W., *Cancer of the Prostate: a nutritional disease*. Urology, 1997. 50: p. 840-848.
- Fang, J, Metter, J.E., Landis P., et al. *PSA velocity for assessing prostate cancer risk in men with PSA levels between 2.0 and 4.0 ng/mL*. Urology 2002. 59: 889–894.
- Farley JR, Hall SL, Ilacas D et al., *Quantification of skeletal alkaline phosphatase in osteoporotic serum by wheat germ agglutinin precipitation, heat inactivation, and a two-site immunoradiometric assay*. Clin Chem, 1994. 40:p.1749-56.
- Fledelius C, Johnsen AH, Cloos PA, Bonde M, Qvist P. *Characterization of urinary degradation products derived from type I collagen*. J. Biol Chem, 1997.272: p. 9755-63.
- Fuhr B, Dunstan CR, Seibel MJ., *Clinical review 165: markers of bone remodeling in metastatic bone disease*. J. Clin Endocrinol Metab, 2003. 88: p. 5059-75.
- Fowler JE, Brooks J, Pandey P, Seaver LE. *Variable histology of anastomotic biopsies with detectable prostate specific antigen after radical prostatectomy*. J Urol. 1995; 153:1011–1014
- Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. *A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer*. JAMA. 1995 Jan 25;273(4):289-94.
- Garnero P, Borel O, Delmas PD., *Evaluation of a fully automated serum assay for C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen in osteoporosis*. Clin Chem, 2001. 47:p. 694-702.
- Garnero P, Buchs N, Zekri J, Rizzoli R, Coleman RD, Delmas PD., *Markers of bone turnover for the management of patients with bone metastases from prostate cancer*. Br J Cancer, 2000. 82:p. 858-64.
- Garnero P. *Markers of bone turnover in prostate cancer*. Cancer Treat Rev 2001;27:187-192.

- Green S, Antiss CL Fishman WH. *Automated differential Isoenzyme analysis. II. The fractionation of serum alkaline Phosphatase into liver, intestinal, and other components*. Enzymologia 1971;41:9-26
- Gundberg CM, Markowitz ME, Mizrchi M, Rosen JF. *Osteocalcin in human serum: a circadian rhythm*. Clin Endocrin Metab, 1985. 60: p. 736-9.
- Haenszel W., Kuriharim *Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States*. J Natl Cancer Inst, 1968. 40: p. 43-68.
- Halleen J, Hentunen TA, Hellman J, Vaananen HK: *Tartrate-resistant acidphosphatase from human bone: purification and development of an immunoassay*. J Bone Miner Res 1996. 11: p. 1444-1452.
- Halleen J.M. Ylipahkala H. Alatalo S.L. et al. Serum Tartrate-Resistant Acid Phosphatase 5b, but not 5°, Correlates with other Markers of Bone Turnover and Bone Mineral Density. Calcif. Tissue Int. (2002)71:20-25
- Halleen J.M., Alatalo S.L., Suominen H., Cheng S., *Tartrate-resistant Acid Phosphatase 5b: A Novel Serum Marker of Bone Resorption*. Journal of Bone and Mineral Research, 2000. 15(7): p.1337-1345.
- Halleen J.M., Ranta R. *Tartrate-resistant acid phosphatase as a serum marker of bone resorption*. European Clinical Laboratory, 2001. 20: p. 12-14.
- Halleen JM, Tiitinen SL, Ylipahkala H et al.: *Tartrate-resistant acid phosphatase 5b (TRACP 5b) as a marker of bone resorption*. 2006. 52(9-10): p. 499-509.
- Hammerer P. *Journal für Urologie und Urogynäkologie 2004*; 11. (Sonderheft 7) p. 5-47. österreichische Ausgabe.
- Hammerer P., Grafen M., Steuber T., Huland H. *Chemoprävention des Prostatakarzinoms*. Urologe, 2000. 39: p. 304-308.
- Hammerer P., Huland H. *Systematic sextant biopsies in 651 patients referred for prostate evaluation*. J Urol. 1994. Jan. 151 (1): p. 99-102.
- Hanson DA, Weis AE, Maslan SL, et al., *A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen crosslinked telopeptides in urine*. J Bone Mineral Res, 1992. 7:p. 1251-8.
- Harris H. *The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know*. Clin Chim 1989;186:133-150
- Hautmann R, Huland H (2006): Urologie. 3. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York. Springer Verlag. Seite 234-240.

- Hegele A, Wahl HG, Schrader AJ, Sevinc S, Koliva L, Hofmann R, Olbert P. *Comparison of serum bone turnover markers and pain scores in bone metastases due to hormonrefractory prostate cancer (HRPCA); Effects of combined and repeated zoledronic acid and docetaxel-based chemotherapy.* Eur Urol Suppl. 2006; 5(2): 55
- Hegele A, Olbert P, Schrader AJ, Wagner R, Hofmann R, Leeming DJ (2008): *Evaluation of non-isomerized c-telopeptide fragments of type-I collagen (alpha-CTX) as a novel marker of bone metabolism in patients with localized, metastasized and hormone refractory prostate cancer (PCA).* Eur Urol Suppl; 7(3):206
- Heidenreich A, Aus G, Bolla M, Joniau S, Matveev VB, Schmid HP, Zattoni F; . *EAU guidelines on prostate cancer.* European Association of Urology Eur Urol. 2008 Jan;53(1):68-80. Epub 2007 Sep 19.
- Hoang, Q.Q., Sicheri F., Howard A.I. et al. *Bone recognition mechanism of porcine osteocalcin from crystal structure.* Nature 2003. 425: 977-980.
- Hricak H, White S, Vigneron D, et al. *Carcinoma of the prostate gland: MR maging with pelvic phased-array coils versus integrated endorectal-pelvic phased-array coils.* Radiology. 1994;193:703–9.
- Humphrey PA: *Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate.* Mod Pathol. 2004 Mar;17(3):292-306. Review.
- Hussain SA, Weston R, Stephenson RN, George E, Parr NJ,. *Immediate dual energy X-Ray absorptiometry reveals a high incidence of osteoporosis in patients with advanced prostate cancer before hormonal manipulation.* BJU Int, 2003.92: p. 690-4.
- IDS (Immunodiagnostics Systems Holdings PLC, Großbritannien)
- Igle J. de Jong, Jan Pruim, Philip H. Elsinga, Willem Vaalburg, and Han J. Mensink, *Preoperative Staging of Pelvic Lymph Nodes in Prostate Cancer by 11C-Choline PET.* The Journal of nuclear medicine Vol. 44; No.3; 2003: p 331-335
- Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnostik und Therapie der verchiedenen Stadien des PCA. Deutsche Gesellschaft für Urologie 2009.
- Janckila AJ, Takahashi K, Sun SZ, Yam LT., *Tartrate-resistant acid Phosphatase isoform 5b as serum marker for osteoclastic activity.* Clin Chem 2001. 47: p. 74-80.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al *Cancer Statistics 2007,* CA Cancer J Clin 2007; 57; 43-66.
- Jung K, Lein M, Stephan C et al., *Comparison of 10 serum bone turnover markers in prostate carcinoma patients with bone metastatic spread: diagnostic and prognostic implications.* Int J Cancer 2003. 1(11): p. 783-91.

- Kataja VV, Bergh J., *ESMO minimum clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of prostate cancer*. Ann Oncol 2005. 16 (suppl 1): p.134-136.
- Katakoa, A., Yuasa, T., Kageyama S, et al., *Diagnosis of one metastasis in men with prostate cancer by measurement of serum ICTP in combination with alkali phosphatase and Prostate-specific antigen* Clinical Oncology (2006) 18:480-484
- Kattan MW, Stapleton AM, Wheeler TM, Scardino PT. *Evaluation of a nomogram used to predict the pathologic stage of clinically localized prostate carcinoma*. Cancer 1997. 79: p. 528-37.
- Koizumi M, Yonese J, Fukuli I, Orgata E. *The serum level of the amino-terminal propeptide of type I procollagen is a sensitive marker for prostate cancer metastases to bone*. BJU Int, 2001. 87:p. 348-51.
- Kolonel LN., *Nutrition and prostate cancer*. Cancer Causes Control, 1996. 7: p. 83-94.
- Kuefer R., *Tastuntersuchung, PSA und transrektaler Ultraschall: Rationale Diagnostik beim Prostatakarzinom*. Klinikarzt, 2004. 33(5): p. 127-132.
- Kupelian P, Kuban D, Thames H, et al. *Improved biochemical relapse-free survival with increased external radiation doses in patients with localized prostate cancer: the combined experience of nine institutions in patients treated in 1994 and 1995*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2005;61:415–9
- Lam KW, Li CY, Yam LT, Desnick RJ. *Comparison of the tartrate-resistant acid Phosphatase in Gaucher`s disease and leukemic reticuloendotheliosis*. Clin Biochem, 1981. 14: p.177-81.
- Langlois, MR, Delanghe JR, Kaufman JM, et al. *Posttranslational heterogeneity of bone alkaline phosphatase in metabolic bone disease*. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32:675-80.
- Lau W, R. Cesar, G. Libanati, et al., *Calcium-Regulating Hormones and Markers of Bone Metabolism: Measurement and Interpretation*, Heidelberg 1997. pp. 183-197.
- Loch T. *Computerized supported transrectal ultrasound (C-TRUS) in the diagnosis of Prostate cancer*. Urologe [A], 2004. 43:p. 1377-1384.
- Lorente JA, Morote J, Raventos C, et al. *Clinical efficacy of bone alkaline phosphatase and prostate specific antigen in the diagnosis of bone metastases in prostate cancer*. J Urol, 1996.155:p.1348-51.
- Lothar Th. *Labor und Diagnose*, Auflage 6, 2005: p.38 ff.

- Lyubimova NV, Pashkov MV, Tyulyandin SA. *Tartrate-Resistant Acid Phosphatase as a Marker of Bone Metastases in Patients with Breast Cancer and Prostate Cancer*. Bull xp Biol and Med, 2004. Vol 138(7): p.91-93.
- Masuhara K, Suzuki S., Yoshikawa H., *Development of a monoclonal antibody specific for human bone alkaline phosphatase*. Bone and Mineral 1992.17:p.182-86.
- Millán JL, Fishman WH, *Biology of human alkaline phosphatases with special reference to cancer*. CRC Rev Clin Lab Sci, 1995. 32:p.1-39.
- Miller K, Borgermann C, Thuroff J, Albers P, Wirth M., *Therapeutic options for hormone-refractory prostate cancer*. Der Urologe [A] 2006. 45(5):580, 582-585.
- Miller PD, Eardley I, Kirby RS., *Prostate specific antigen and bone scan correlation in the staging and monitoring of patients with prostatic cancer*. Br J Urol, 1992.70: p. 295-302.
- Mora S, Pituchewanont P, Kaufmann FR, Nelson JC, et al., *Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone in children at different stages of sexual development*. J Bone Miner Res, 1999.14:p.1664-71.
- Morris MM, Dallow KC, Zietman AL: *Adjuvant and salvage irradiation following radical prostatectomy for prostate cancer*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1997; 38: 731–736.
- Muir CS, Nectoux J, Straszewski J., *The epidemiology of prostatic cancer: geographical distribution and timetrends*. Acta Oncol, 1991. 30: p. 33-140.
- Mundy, G.R. *Metastasis to Bone: Causes, Consequences and Therapeutic Opportunities*. Nature Reviews Cancer, 2002. 584-593.
- O'Donoghue JM, Rogers E, Grimes H, et al., *A reappraisal of serial isotope bone scans in prostate cancer*. Br J Radiol, 1993. 66:p. 672-81.
- O'Sullivan JM, Cook GJ. *A review of the efficacy of bone scanning in prostate and breast cancer*. Q J Nucl Med 2002;46:152-159.
- Oliver SE, May MT, Gunnell D. *International trends in prostate-cancer mortality in the PSA era*. Int J Cancer 2001;92:893-898
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. *Global cancer statistics CA Cancer J Clin*, 2005. 55:74-108
- Partin AW, Brawer MK, Bartsch G, et al. *Complexed prostate specific antigen improves specificity for prostate cancer detection: results of a prospective multicenter clinical trial*. J Urol 170: 1787-91, 2003

- Percival, R.C. et al. *Biochemical and histological evidence that carcinoma of the prostate is associated with increased bone resorption*. Eur. J. Surg. Oncol. 13, 41-49 (1987)
- Petrovic Z, Lieskovsky G, Langholz B: *Radical prostatectomy and post-operative irradiation in patients with pathological stage C (T3) carcinoma of the prostate*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998; 40: 139–147.
- Pfielschifter J, Diel IJ. *Osteoporosis due to cancer treatment: pathogenesis and management*. J Clin Oncol, 2000. 18: p.1570-93.
- Price P.A., Otsuka A.S., Poser J.W. et al. *Characterization of the gamma-carboxyglutamic acid containing protein from bone*. Proc Natl Acad Sci USA 1976; 73:1447-1451
- Rabbani F, Stroumaki N, Kava BR, Cookson MS, Fair WR; *Incidence and clinical significance of false neagative sextant prostate biopsies*. J Urol 1998. 159(4):p. 1247-1250.
- Reiner C., Wiehaupt D. *Stellenwert der Magnetresonanztomographie in Diagnose und Therapie des Prostatakarzinoms*. Schweiz. Med. forum 2008; 8(47):919-921
- Renfer LG, Schow D, Thompson IM, Optenberg S., *Is ultrasound guidance necessary for transrektal prostate biopsy?*; J Urol. 1995. Oct, 154(4):1390-1391.
- Rinnab L. Küfer R. Hautmann R.E. *Innovative Diagnostik in der Früherkennung und beim Staging des lokalisierten Prostatakarzinoms*, 2005.
- Risteli J, Elomaa I, Niemi S. Et al. *Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation*. Clin Chem 1993;39:635-40
- Roehl, K.A., Antenor, W, Catalona W., *Robustness of free Prostate Specific Antigen measurements to reduce unnecessary biopsies in the 2,6 to 4,0 ng/ml range*. The Journal of Urology 2002, Sept. Vol. 168, 922–925.
- Rohan TE, Howe GR, Burch JD, Jain M., *Dietary factors and risk of prostate cancer: a casecontrol study in Ontario. Canada*. Canc Causes Control, 1995. 6: p. 145-154.
- Roodman D.: *Bone Metastasis*. N Engl J Med. 2004; 350: 1655.
- Rosalki SB, Foo AY, *Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phopshatase isoenzymes in plasma*. Clin Chem, 1984. 30:p.1182-6.
- Scarnecchia L, Minisola S, Pacitti MT, Carnevale V., *Clinical usefulness of serum tartrate-resistant acid phosphatase activity determination to evaluate bone turnover*. Scand J Clin Lab Invest, 1991. 51:517-524.

- Schmolke B. *Labordiagnose der Osteoporose*. Springer-Verlag, Orthopäde, 2001. 30: p. 425-436.
- Schrijvers D. *Androgen-independent prostate cancer*. Recent Results Cancer Res. 2007;175:239-249.
- Scutellari PN, Addonizio G, Righi R, Giganti M (2000): *Diagnostic imaging of bone metastases*. Radiol Med (Torino). 100(6):429-435.
- Seibel MJ. *Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects*. Osteoporos Int. 2000. 11 (Suppl. 6): p.18-29.
- Seidl CH, Grouls V, Jellinghaus W. *Diagnostische Kriterien und prognostische Aussagen bei der histopathologischen Beurteilung von Stanzbiopsien der Prostata*. Ärzteblatt Rheinland-Pfalz 1997: 133-138
- Song Jm, Kim ChB, Chung HC, Kane RL, *Prostate-specific Antigen, Digital Rectal Examination and Transrectal Ultrasonography: A Meta-Analysis for This Diagnostic Triad of Prostate Cancer in Symptomatic Korean Men*. Yonei Med J, 2005, Vol 46 No 3, p. 414-424.
- Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E (1987) *Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate*. N Engl J Med 317:909–913
- Statistisches Bundesamt
- Steinberg GD., Carter BS., Beaty TH., Childs B., Walsh PC., *Family history and the risk of prostate cancer*. Prostate, 1990. 17: p. 337.
- Sökelland, J, Schulze H, Rübbe H. *Urologie Verstehen-Lernen-Anwenden*, 12. Aufl. Thieme, 2002 p. 280 ff.
- Tamada T, Sone T, Tomomitsu T, Jo, Y, Tanaka H, Fukunaga M. *Biochemical markers for the detection of bonemetastasis in patients with prostate cancer : diagnostic efficacy and the effect of hormonal therapy*. J Bone Miner Metab, 2001. 19 :p. 45-51.
- Teh BS, Bastasch MD, Mai WY, Kattan MW, Butler EB, Kadmon D: *Long-term benefits of elective radiotherapy after prostatectomy for patients with positive surgical margins*. J Urol 2006; 175: 2097–2101.
- Turkeri L, Tarcan T, Biren T., Kullu S, Akdas A; *Transrectal ultrasonography versus digitally guided prostate biopsies in patients with palpable lesions on digital rectal examination*; Br J Urol.. 1995. Aug, 76(2): p. 184-186.

- Wallace BH, Lott JA, Griffiths J, Kirckpatrick B. *Isoforms of alkaline Phosphatase determined by isoelectric focusing in patients with chronic liver disorders*. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996. 34:p. 711-20.
- Wiegel T, Bressel M: *Adjuvant radiotherapy following radical prostatectomy – results of 56 patients*. Eur J Cancer 1995; 31A:5–11.
- Wittekind C, Meyer H-J (Hrsg.): *TNM: Klassifikation maligner Tumoren*. Wiley-VCH Verlag, 7. Auflage, 2010.
- Wymenga LF, Boomsma JH, Groenier K, Piers DA, Mensink HJ. *Routine bone scans in patients with prostate cancer related to serum prostate-specific antigen and alkaline phosphatase*. BJU Int 2001;88:226-230.
- Yin, J.J., et al. *Endothelin A receptor blockade inhibits osteoblastic metastases*. J. Bone Min. Res. 2000. (Suppl 1) 15: p. 1254
- Yin, J.J., et al. *Osteoblastic bone metastases. Tumor produced endothelial-1 mediates new bone formation via the endothelial A receptor*. J. Back Musculoskeletal Rehabil, 1999. 14 (Suppl1): F 400
- Zelevsky MJ, Kuban DA, Levy LB, Potters L, Beyer DC, Blasko JC, Moran BJ, Ciezki JP, Zietman AL, Pisansky TM, Elshaikh M, Horwitz EM (2007): *Multi-institutional analysis of long-term outcome for stages T1-T2 prostate cancer treated with permanent seed implantation*. Int J Radiat Oncol Biol Phys.67(2):327-333.

12. Publikationen

Originalarbeiten

A. Hegele, HG Wahl, Z Varga, S Sevinc, **L Koliva**, AJ Schrader, R Hofmann, P Olbert

Biochemical markers of bone turnover in patients with localized and metastasized prostate cancer.

BJU Int. 2007 feb; 99(2):330-4, Epub 2006 Dec 1.

Publizierte Abstracts

Hegele A, Wahl HG, Varga Z, Sevinc S, **Koliva L**, Schrader AJ, Hofmann R, Olbert P

Biochemical markers of bone turnover in patients with localized and metastasized prostate cancer.

Published online: <http://www.egms.de/en/meetings/dkk2006/>

Hegele A, Wahl HG, Schrader AJ, Sevinc S, **Koliva L**, Hofmann R, Olbert P
Comparison of serum bone turnover markers and pain scores in bone metastases due to hormonrefractory prostate cancer (HRPCA); Effects of combined and repeated zoledronic acid and docetaxel-based chemotherapy.
Eur Urol Suppl. 2006; 5(2): 55

Hegele A, Wahl HG, Sevinc S, **Koliva L**, Hofmann R, Olbert P
Biochemical markers of bone turnover in patients with localized and metastasized prostate cancer.
Urologe 2005;44(suppl.1):S63

Hegele, HG Wahl, R. Hofmann, S. Sevinc, I. Herzum, **L. Koliva**, P. Olbert
Biochemical markers of bone turnover in patients with localized and metastasized prostate cancer.
Bone 2005;36(2):S220

13. Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Damen und Herren:

Adamkiewicz, Aumüller, Barth, Basler, Bauer, Baum, Baumann, Behr, Becker, Berger, Beul, Bien, Büch, Cetin, Christiansen, Czubayko, Daut, Dünne, Dominguez, Donner-Banzhoff, Duda, Eberhart, Eilers, Feiber, Feuser, Garten, Geks, Gemsa, Gerdes, Geus, Görg, Gotzen, Grimm, Griss, Groß, Gudermann, Happle, Hartmann, Hofmann, Hörle, Hoyer, Jaques, Jungclas, Kalder, Kann, Kanngiesser, Kill, Kim-Berger, Klaus, Kleine, Klenk, Klose, König, Koolmann, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroll, Kuhlmann, Kühnert, Kunz, Lang, Lemke, Lenz, Lill, Löffler, Lohoff, Maier, Maisch, Mandrek, Mann, Martin, Mittag, Moll, Moosdorf, Mueller, Müller, Mutters, Neubauer, Netter, Nittel, Oertel, Reinalter, Reinartz, Remschmidt, Renz, Richter, Röhm, Röper, Rose, Rosenow, Rothmund, Rupp, Schäfer, Schmidt, Schmitt, Schmitz, Schnabel, Schneider, Schneyer, Schultz, Schunck, Seitz, Sommer, Steiniger, Stiewe, Stiletto, Strempel, Studer, Sure, Tebbe, Vedder, Vogelmeier, Wagner, Wahl, Waldegger, Weihe, Weiler, Wiegandt, Wilke, Wulf.

14. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Hofmann, Direktor der Klinik für Urologie und Kinderurologie an der Universitätsklinik Marburg, für die Vergabe der Doktorarbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. Axel Hegele für die großartige Betreuung, fachlich kompetente sowie menschliche Unterstützung und Motivation während der gesamten Zeit meiner Dissertation.

Ausserdem danke ich dem gesamten Team der urologischen Station 134 für die Unterstützung während der Datensammlung, sowie den Medizinisch Technischen Assistenten/innen des Zentrallaboratoriums der Universitätsklinik Marburg für die gute Zusammenarbeit.

Meiner Familie danke ich für das Interesse an meiner Arbeit, die Geduld und die Förderung meiner Motivation.

Meinen persönlichen Dank möchte ich Philipp Zervoulakos aussprechen, für seine Hilfe und Geduld bei der Formatierung der Arbeit, sowie meinen Freunden, die mich während der gesamten Zeit der Dissertation begleitet und motiviert haben.